Aus dem Institut für Pathologie der Ruhr-Universität Bochum
Lehrstuhl II (Leiter: Prof. Dr. K. Morgenroth)

# PROLIFERATIONSKINETIK DES SARKOIDOSEGRANULOMS

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ruhr-Universität Bochum

vorgelegt von

JÜRGEN MARTIN BARTH

aus Herne 2

1982

1983

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547222_0047

Aus dem Institut für Pathologie der Ruhr-Universität Bochum
Lehrstuhl II (Leiter: Prof. Dr. K. Morgenroth)

---

# PROLIFERATIONSKINETIK DES SARKOIDOSEGRANULOMS

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ruhr-Universität Bochum

vorgelegt von

JÜRGEN MARTIN BARTH

aus Herne 2

1982

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Prof. Dr. H. Viefhues

Referent: Prof. Dr. K. Morgenroth

Korreferent: Prof. Dr. W.T. Ulmer

Tag der mündlichen Prüfung: 8.2.1963

# Inhaltsverzeichnis


| | | Seite |
|---|---|---|
| 1. | Einleitung | 1 |
| 1.1. | Historisches | 1 |
| 1.2. | Epidemiologie | 1 |
| 1.3. | Ätiologie | 3 |
| 1.4. | Klinisch-diagnostische Aspekte | 5 |
| 1.5. | Pathologische Anatomie | 8 |
| 1.5.1. | Lichtmikroskopie | 8 |
| 1.5.2. | Ultrastruktur | 12 |
| 2. | Fragestellung | 17 |
| 3. | Material und Methode | 19 |
| 3.1. | Herkunft des untersuchten Materials | 19 |
| 3.2. | In-vitro-Kurzinkubation | 22 |
| 3.3. | Histologische Präparation | 24 |
| 3.4. | Autoradiographie | 25 |
| 4. | Befunde und Auswertung | 28 |
| 4.1. | Auswertungsverfahren | 28 |
| 4.1.1. | Festlegung der Zelltypen | 28 |
| 4.1.2. | Auswertungsgrößen | 32 |
| 4.2. | Lichtmikroskopische Befunde | 34 |
| 4.3. | Ergebnis der Auszählung | 38 |
| 4.3.1. | Allgemeines | 38 |
| 4.3.2. | Auswertung | 39 |
| 5. | Diskussion | 5o |
| 5.1. | Methodik | 5o |
| 5.1.1. | Histoautoradiographie | 5o |
| 5.1.2. | In-vitro-Kurzinkubation | 52 |
| 5.2. | Granulome, retikulo-endotheliales (histiozytäres) System und Mononukleäres-Phagozytose-System | 53 |
| 5.3. | Diskussion der eigenen Ergebnisse | 59 |
| 6. | Zusammenfassung | 8o |
| 7. | Tabellarischer Anhang | 82 |
| 8. | Literaturverzeichnis | 91 |
| 9. | Danksagung | 1o9 |
| 1o. | Lebenslauf | 11o |

# 1. Einleitung

## 1.1. Historisches

Die erste Beschreibung des später als Sarkoidose bezeichneten Krankheitsbildes wird dem englischen Dermatologen und Chirurgen Jonathan HUTCHINSON (1829 - 1913) zugeschrieben. Im deutschen Schrifttum wird dieses Verdienst allerdings eher dem Franzosen Ernest BESNIER (1831 - 19o9) zugesprochen, der im Jahre 1889 in Paris einen Kranken vorstellte, der an eigentümlichen, von BESNIER als "Lupus pernio" bezeichneten Veränderungen im Gesicht erkrankt war. Wie für HUTCHINSON und für BESNIER, so war auch für den norwegischen Dermatologen Caesar BOECK (1845 - 1917) die Sarkoidose wohl vornehmlich eine Erkrankung der Haut. Von C. BOECK stammt die erste dokumentierte Abbildung eines histologischen Schnittpräparates und mit seinem Namen ist das Krankheitsbild der Sarkoidose besonders im germanischen Sprachraum bis heute verbunden geblieben.

Als Allgemeinerkrankung wurde die Sarkoidose allerdings erst zu Beginn dieses Jahrhunderts von dem schwedischen Dermatologen Jörgen SCHAUMANN (1879 - 1953) erkannt.

In der Folge finden sich dann zahlreiche Berichte über verschiedenste Organerkrankungen mit dem morphologischen Bild der Sarkoidose. Mit dem breiten Einsatz der Röntgenreihenuntersuchung der Thoraxorgane, mit der auch asymptomatische Fälle erfaßt werden konnten, wurde schließlich offensichtlich, daß es sich um ein verbreitetes Krankheitsbild und nicht nur um eine äußerst seltene systemische Erkrankung Einzelner handelte.

## 1.2. Epidemiologie

Besonders durch die in den letzten Jahren auf internationaler Ebene durchgeführten Untersuchungen mußte ein Teil der Vorstellungen über Häufigkeit, Geschlechtsverteilung und

über rassische und geographische Verteilung der Sarkoidose revidiert werden.

Dabei liegen die Schwierigkeiten oft im Bereich der Diagnostik und Krankheitserkennung. RØMER (1976) hat von der Sarkoidose als einem epidemiologischen "Eisberg-Syndrom"gesprochen und gemeint, daß bei einem erkannten Krankheitsfall mit etwa fünf oder mehr unerkannt gebliebenen Fällen zu rechnen ist. Dies hat seine Gründe einmal sicherlich darin, daß der größte Teil der Fälle ohne jegliche Krankheitssymptomatik und mit einer hohen Neigung zur spontanen Remission verläuft,oder daß sich Krankheitserscheinungen zeigen, die dann wegen ihrer oft geringen Spezifität nicht auf den Grundprozeß zurückgeführt werden. Schließlich kann es dann sogar unmöglich werden, klinisch die Diagnose zu stellen, wenn das Krankheitsbild seinen Endzustand, die "ausgebrannte" Lungenfibrose, erreicht hat.

Unter diesen Gesichtspunkten sind dann die angegebenen Häufigkeiten von 8 - 64 (in S hweden) Krankheitsfälle auf 1oo ooo Einwohner zu betrachten (BAUER u. LOFGREN 1964). Für die Bundesrepublik Deutschland wird eine Inzidenz von 8 - 1o/1ooo ooo Einwohner angenommen (BEHREND 1969). Interessanterweise zeigt sich aber auch bei den neuerlich erhobenen Daten eine Umkehrung des allgemein beobachteten geographischen Nord-Süd-Gefälles in der Häufigkeit für das Gebiet der Bundesrepublik genauso wie für die DDR (LEVINSKY et al. 1976).

Eine erhebliche Bevorzugung des weiblichen Geschlechts konnte nicht durchgängig belegt werden (JAMES et al. 1976). Dagegen scheinen Personen dunkler Hautfarbe nicht nur etwas häufiger betroffen zu sein als Weißhäutige, auch sind bei jenen die Organmanifestationen öfter Leber, Auge, Haut oder Herz als Lunge und (mediastinale) Lymphknoten bei letzteren (SARTWELL 1976, ISRAEL u. WASHBURNE 1976).

Bezüglich der Altersverteilung findet sich nach wie vor ein deutlicher Häufigkeitsgipfel in der Altersgruppe der 2o - 4o jährigen Patienten.

## 1.3. Ätiologie

Das Problem der Ätiologie ist trotz wachsender Erkenntnisse hinsichtlich Krankheitsverlauf, Diagnose und Therapie stets Kernpunkt der Diskussion geblieben. Die Schwierigkeiten, die diese zentrale Frage umgeben, scheinen nach wie vor undurchdringbar zu sein, obwohl es nicht an einer intensiven Suche nach einem Stoff gemangelt hat, der die Reaktion möglicherweise auslösen könnte.

Angeschuldigt, geprüft, weiter verdächtigt oder entlastet wurden: Viren (HIRSHAUT et al. 197o, BYRNE et al. 1973, STEPLINSKI u. ISRAEL 1976, GLAUS et al. 198o), Pilze (BARBOLINI et al. 198o), Protozoen (MOSCOVIC u. NEPTUNE 1969), Bakterien wie Proprionibakterium und Yersinia (ITO et al. 198o), Blastomyces (BAUM et al. 1973) und Cryptococcus (WINTERBAUER u. KRAEMER 1976). Sehr weit verbreitet ist bis heute die Vorstellung, daß es sich bei der Sarkoidose um den atypischen Verlauf einer Tuberkulose oder in einem weiteren Sinne um eine atypische Mykobakteriose handeln könnte (SCADDING 1967, MANKIEWICZ 1963, CHAPMAN u. SPEIGHT 1964, VANEK u. SCHARTZ 197o, BARTH et al. 198o).

Besondere Beachtung gilt seit einiger Zeit auch der nachgewiesenen Möglichkeit, daß auch isolierte Zellwandpartikel (YAMAMOTO et al. 1978) oder gar nur bestimmte Zucker-Eiweiß-Verbindungen (Polysaccharid-Peptidoglycan-Polymere, Glucan-Chitin-Polymere) bereits längst abgetöteter Erreger als granulominduzierender Faktor wirksam sein können (HEYMER u. HAFERKAMP 198o, TANAKA et al. 198o).

Daneben wurde die Inhalation organischer Stäube als Ursache angeführt (CUMMINGS et al. 1959) und die Verteilung anorganischer Mineralien untersucht (ABRAHAM 198o). Neben der Vermutung eines Einflusses ökologischer Faktoren (HIRAGA et al. 1977) stehen immer wieder Beobachtungen einer familiären Häufung und der Verdacht, daß es eine erbliche Komponente

des Krankheitsbildes geben muß (JÖRGENSEN 1965, JAMES et al. 1974, BRACKERTZ 1974, TURTON et al. 1980).

Ausgehend von der Beobachtung, daß Sarkoidosekranke häufig eine negative Hautreaktion auf Tuberkulin zeigen, ist besonders in den letzten Jahren die Erforschung der immunologischen Aspekte intensiv vorangetrieben worden. So darf es heute zwar als sicher gelten, daß Sarkoidosepatienten eine verminderte Immunantwort im Rahmen der verzögerten, zellvermittelten Reaktion zeigen, aber eine ungestörte humorale Abwehrlage aufweisen. Außerdem erwies sich gerade bei der Untersuchung der immunologischen und serologischen Befunde der Mangel eines adäquaten Krankheitsmodells im Hinblick auf das auslösende Agens als besonders nachteilig. Dem Einwand, daß alle feststellbaren Abweichungen ebenso als Folge der granulomatösen Reaktion wie auch Ausdruck eines primär alterierten Immunsystems bewertet werden können, ließ sich nur schwer begegnen (SILTZBACH u. TAUB 1978).

Wenn nun auch bisher weder ein spezifischer Organismus noch eine organische oder anorganische Substanz oder ein anderes kausales Agens im Gewebe nachgewiesen werden konnte, so verdichtete sich dennoch die Vermutung, daß es einen solchen, die Reaktion auslösenden Stoff geben müsse. Gelang es doch - ausgehend von Untersuchungen am Kveim-Granulom - experimentell mittels eines Homogenates aus Sarkoidoselymphknoten bei Versuchstieren wieder eine epitheloidzellige Granulomatose zu erzeugen und anschließend in einer erneuten, oft mehrmaligen Passage immer wieder entsprechende Läsionen nach der Übertragung hervorzurufen (MITCHELL u. REES 1969 u. 1980).

## 1.4. Klinisch-diagnostische Aspekte

Das klinische Erscheinungsbild der Sarkoidose ist äußerst vielfältig. Gemeinhin wird eine akute Verlaufsform, das Löfgren-Syndrom, von einer chronischen Verlaufsform unterschieden. Das Löfgren-Syndrom ist gekennzeichnet durch den stürmischen Einsatz von Fieber, dem Auftreten eines Erythema nodosum und Polyarthralgien, die häufig zur Fehldiagnose eines rheumatischen Fiebers führen.

Schleichend, oft sehr lange klinisch völlig symptomlos, obwohl z.B. röntgenologisch bereits ausgedehnte Veränderungen gesehen werden können, verläuft die chronische Sarkoidose. Neben einer meist geringen Allgemeinsymptomatik wie Müdigkeit, Leistungsabfall, Schweißneigung und Appetitlosigkeit wird das klinische Bild dann von dem allein oder den hauptsächlich betroffenen Organen bestimmt - und betroffen sein können alle Organe. Die nachfolgende Aufstellung gibt einen Überblick über die häufigsten Manifestationen:

Organmanifestationen der Sarkoidose (nach Angaben in der Literatur)

| | | |
|---|---|---|
| mediastinale Lymphknoten | 98 - 1oo % | selten: |
| Lunge (mit Bronchialsystem) | 6o - 8o % | Genitale |
| Leber | 5o - 6o % | Hypophyse |
| "periphere" Lymphknoten | 1o - 3o % | Pankreas |
| Augen | 5 - 25 % | Schilddrüse |
| Milz | 2o % | Nebenschilddrüse |
| Herz | 5 - 2o % | Pleura |
| Haut | 1o - 15 % | Blutgefäße |
| Niere | 5 - 1o % | Synovia |
| Nervensystem (ZNS) | 1o % | Knochenmark |
| Verdauungstrakt | 1o % | Retroperitoneum |
| Knochen | 5 % | |
| Parotis | 5 % | |
| Tränendrüsen | 5 % | fast nie: |
| Muskulatur | 5 % | Nebennieren |
| Schleimhäute | 2 - 5 % | |
| Narbengewebe | 2 - 5 % | |

Manche Organmanifestationen der Sarkoidose sind äußerst charakteristisch und haben mit ihren charakteristischen Begleiterscheinungen in den verschiedenen medizinischen Fachdisziplinen zur Beschreibung regelrechter Syndrome geführt, wie beispielsweise das Heerfordt-Syndrom (Uveo-Parotitis), das Miculicz-Syndrom (Tränen- und Speicheldrüse) oder die Ostitis cystoides Jüngling.

Aber nicht nur wegen des überwiegenden intrathorakalen Auftretens nimmt in der Diagnostik der Sarkoidose der Röntgenbefund der Thoraxorgane die beherrschende Stellung ein; er bildet ganz wesentlich die Basis der klinischen Stadieneinteilung. Anhand der röntgenologischen Veränderungen werden drei Stadien des Krankheitsgeschehens unterschieden (nach WURM):

Stadium I : meist beidseitige, polyzyklische Verbreiterung der hilären, oft auch der paratrachealen Lymphknoten (Tomogramm); 4o % der Fälle zeigen eine spontane Ausheilung; in 6o % der Fälle Übergang in das Folgestadium;

Stadium II: Beteiligung der Lungen in Form einer oft sehr ausgeprägten, netzförmigen, feinstreifigen Strukturvermehrung in beiden Lungen mit Prädelektion im Mittelfeld, meist perihilär dichter als peripher. Eine weitere Unterteilung ergibt sich sowohl unter einem röntgenologischen wie auch unter einem prognostischen Gesichtspunkt: zum überwiegenden Teil ist auch hier noch eine vollständige Heilung möglich (spontan oder unter Therapie), daneben aber kommt es oft nur zur Verlangsamung des Überganges in Stadium III, selten auch schon zum tödlichen Ausgang wegen akuter respiratorischer Insuffizienz.

Stadium III: Stadium der Fibrose, evtl. mit pleuraler Verschwartung, Verziehung der narbig-indurierten Lungenhili nach oben, gelegentlich mit Atelektasen als Folge von Bronchusstenosen. Klinisch besteht fast immer eine Einschränkung der Lungenfunktion. Eine Heilung ist nicht mehr möglich; durch eine symptomatische Therapie können die klinischen Symptome gebessert werden.

Es ist verständlich, daß bei dieser starren Einteilung viele fließende Übergänge und Zwischenstadien vorkommen.

Auf dem Weg zur Diagnose werden dann noch eine Reihe weiterer klinischer und laborchemischer Phänomene beobachtet, denen aber leider oft nur eine geringe Spezifität zukommt. Dazu gehören die Hypercalzämie und die Hypercalzurie, die Erhöhung der Serumimmunglobuline, insbesondere des IgG.

Von Wichtigkeit, auch für die Differentialdiagnose, ist die Beobachtung einer in zwei Drittel der Fälle negativen Tuberkulin-Hautreaktion. Eine hohe Sensitivität und Spezifität allerdings besitzt der Kveim-Siltzbach-Test. Abhängig von der Präparation der verwendeten Suspension kommt diesem Test eine hohe diagnostische Wertigkeit (65 - 8o % positiv bei bestehender und aktiver Erkrankung) zu (SILTZBACH 198o). Zunehmend an Bedeutung gewonnen hat seit den ersten Beobachtungen erhöhter Serumspiegel (LIEBERMEISTER 1975) die Bestimmung der Aktivität des Angiotensin-converting-Enzyms (ACE) im Serum von Sarkoidosepatienten. So ist inzwischen in zahlreichen Arbeiten gezeigt worden, daß - mit Ausnahme des seltenen Morbus Gaucher - bei keiner Erkrankung vergleichbar hohe Serumaktivitäten bestehen (FERLITSCH et al. 198o, STUDDY u. JAMES 198o).

## 1.5. Pathologische Anatomie

### 1.5.1. Lichtmikroskopie

Die Sarkoidose gehört in den Kreis der chronisch-produktiven Entzündungsreaktionen. Morphologisch ist dieses Reaktionsbild charakterisiert durch die Bildung eines epitheloidzelligen Granuloms. Große, locker mosaikartig angeordnete Zellen, die Epitheloidzellen - so benannt nach ihrer epithelartigen Formation besonders in den randlichen, oberflächlichen Anteilen des Granuloms - bilden die Hauptmasse der Knötchen. Die Epitheloidzellen besitzen meist lichtmikroskopisch nur unscharf gegeneinander abgrenzbare Zellgrenzen, das Cytoplasma erscheint homogen und leicht eosinophil; sehr auffällig ist der gewöhnlich ovoide bis längliche, zum Cytoplasma hin deutlich abgegrenzte Kern mit seiner feinkörnigen Chromatinverteilung im hellen Karyoplasma und den vergrößerten

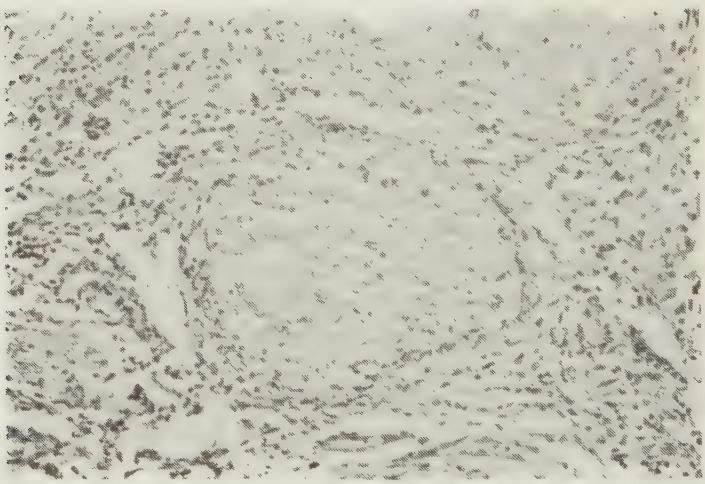


Abb. 1 epitheloidzelliges Granulom in einem Lymphknoten; im Zentrum eine mehrkernige Riesenzelle, geringe randliche Fibrosierung (Fall-Nr. 2)
Technische Angaben:
H.E.-Färbung; Objektiv: 25,o mit Deckglasausgleich, Agfachrome 5o S, Vergr. 375-fach.

Nukleolen, von denen meist einer, oft aber auch mehrere beoabachtet werden. In den zentraleren Anteilen des Granuloms finden sich - wenn auch nicht sehr häufig - Langhanssche Riesenzellen. Gelegentlich lassen sich in deren Cytoplasma konzentrisch-geschichtete, schollige, kalkartige Ablagerungen nachweisen, welche als Schaumannsche Körperchen bekannt sind. Selten wird daneben im Riesenzellcytoplasma eine sternförmige oder rosettenartige,kristallin erscheinende Struktur gesehen, die "asteroid bodies" bezeichnet und als Zellwandresiduen nach einer postulierten Konfluenz der Epitheloidzellen zur Riesenzelle gedeutet wurden (GUSEK 1962). Andere Untersucher halten jene sternförmigen Gebilde für intracytoplasmatische Kollagenfibrillen und für das Syntheseprodukt der Epitheloidzellen (AZAR u. LUNARDELLI 1969). Demgegenüber steht die Auffassung von CAIN und KRAUS (1980), die, sich stützend auf elektronenmikroskopische Untersuchungen, zu der Erkenntnis gelangen, daß es sich bei "asteroid bodies" und Schaumannschen Körperchen um verschieden weit fortgeschrittene Entwicklungsschritte des gleichen Vorgangs handeln könnte, nämlich um unterschiedlich weit konsolidiertes Material, herstammend von Mikrotubuli, Mikrofilamenten und Centriolen, die nach der Konfluenz oder der Einverleibung der Epitheloidzellen eine Funktion bei der Reorganisation des Riesenzellcytoplasmas zu erfüllen hatten.

Die histologische Diagnose stützt sich aber nicht auf den keineswegs durchgängigen Nachweis dieser übrigens auch bei anderen Granulomatosen vorkommenden Elemente, bedeutsamer ist vielmehr in der Regel - besonders in der differentialdiagnostischen Abgrenzung zum tuberkulösen Granulom - die fehlende Tendenz des Sarkoidosegranuloms zur zentralen Verkäsung und der nur schwache Lymphozytenwall, der das Sarkoidosegranulom umgibt. Die charakteristische Eigenheit des epitheloidzelligen Granu-

loms vom Sarkoidosetyp zeigt sich jedoch erst in seiner Entwicklung. So ergibt sich einerseits die Möglichkeit einer nahezu residuenfreien Rückbildung als günstigste Verlaufsrichtung, dann aber kann jener Prozeß in Gang kommen, der als "hyaline Transformation" bezeichnet wurde. Eingeleitet und begleitet von einem, in der üblichen Lichtmikroskopie allerdings nur schwer erfaßbaren Strukturwandel der das Granulom bildenden Zellen kommt es zur fortschreitenden hyalinen Verödung des Granuloms. Zwischen den einzelnen Epitheloidzellen, am ausgeprägtesten aber in der Granulomperipherie, bilden sich schmale, schließlich immer breitere, fibrilläre, teils auch homogen erscheinende Abscheidungen, die fortschreitend zum Endstadium eines ausgedehnten Narbenbezirks zusammenfließen. Epitheloidzellen werden jetzt nicht mehr gesehen, im zellarmen Narbengewebe lassen sich nur noch einzelne Fibrozyten ausmachen.

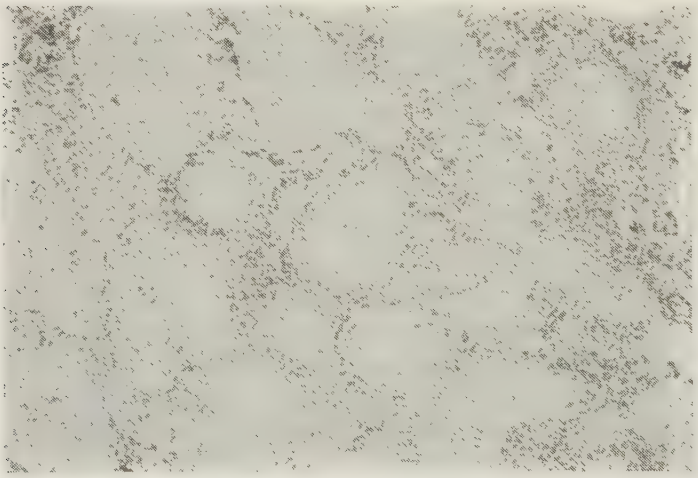


Abb. 2 Sarkoidose eines Lymphknotens; abschnittsweise fortgeschrittene "hyaline Transformation", (Fall-Nr. 3)
H.E.-Färbung; Objektiv 2,5; Agfachrome 5o S, Vergr. 37,5-fach

Im Semidünnschnitt können die einzelnen Strukturen des epitheloidzelligen Granuloms genauer differenziert werden. Da die Herstellung der Semidünnschnitte aber einen relativ größeren zeitlichen und apparativen Aufwand erfordert als die herkömmlichen Schnitte, eignet sich diese Technik leider nicht für die Routinediagnostik.

Besonders in den frühen Stadien der Granulombildung kann sich die Semidünnschnittechnik in der Diagnose als nützlich erweisen. Da im o,5 - 1,o µm dicken Schnitt in der Regel nur eine Zellschicht vorliegt, welche dann noch, bedingt durch die andersartige Schnitt- und Einbettungsweise im Vergleich zum Paraffinschnitt eine nur geringe Schrumpfung der Zellen zeigt, können frühe Stadien der Granulombildung durch die deutlicher erkennbaren Zellgrenzen sicherer unterschieden werden. Neben der detaillierten morphologischen Analyse der Epitheloid- und Riesenzellen, erlaubt der Semidünnschnitt auch eine plastischere Beurteilung der das Granulom umgebenden Strukturen wie Lymphspalten, Gefäße oder Bindegewebe.

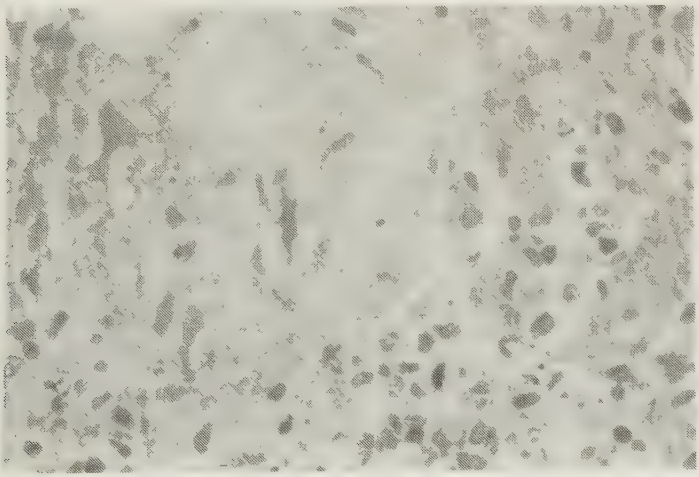


Abb. 3 Semidünnschnitt; Sarkoidosegranulom mit deutlicher peripherer Fibrosierung, im Zentrum eine vakuolisierte Riesenzelle, Doppelfärbung mit Methylenblau und bas. Fuchsin; Vergr. 5oo-fach

Abb. 4 Semidünnschnitt; epitheloidzelliges Granulom, teils ausgedehnte Vernarbung, ohne Riesenzellen, (Fall-Nr. 11)
Doppelfärbung mit Methylenblau/bas. Fuchsin, Vergr. 250-fach

### 1.5.2. Ultrastruktur

Die Untersuchung der Ultrastruktur des epitheloidzelligen Granuloms hat zahlreiche neue, teils unerwartete und in der Deutung unterschiedliche Ergebnisse erbracht.

Sehr ausführlich hat GUSEK (GUSEK 1968) den ultrastrukturell erfaßbaren Wandel der Epitheloidzelle im stadienmäßigen Ablauf des Sarkoidosegranuloms beschrieben. In den frühen Stadien des frischen, "saftigen" Granuloms enthalten die Epitheloidzellen sehr zahlreiche und gut strukturierte Mitochondrien, die, neben dem großen Golgi-Komplex, als Anzeichen einer gesteigerten Stoffwechselaktivität bewertet werden. Neben dem Mitochondrienreichtum fällt dann immer wieder die große Anzahl unterschiedlich heller und elektronendichter, lysosomaler Vesikel auf. Innerhalb dieser vakuolären Strukturelemente läßt sich ge-

legentlich ein offenbar phagozytiertes Material abgrenzen. Wegen des Nachweises dieser Partikel sowie des hohen Anteils von Lysosomen werden diese Zellen als Epitheloidzellen vom Phagozytose-Typ bezeichnet. An der Oberfläche dieser Zellen kommt ein recht unterschiedliches Muster zur Darstellung. Lange, fingerförmige Zellausläufer führen nicht nur zu einer Vergrößerung der Zelloberfläche und lassen auf einen regen Stoffaustausch zwischen Interstitium und Zellinnerem schließen, möglicherweise kommt ihnen auch eine mechanische Funktion als Stabilitätsfaktoren oder im Sinne von Haftelementen zwischen den Zellen zu. Dieser Eindruck entsteht besonders bei der Betrachtung des Granuloms im Rasterelektronenmikroskop (Abb. 5, 6, und 7).

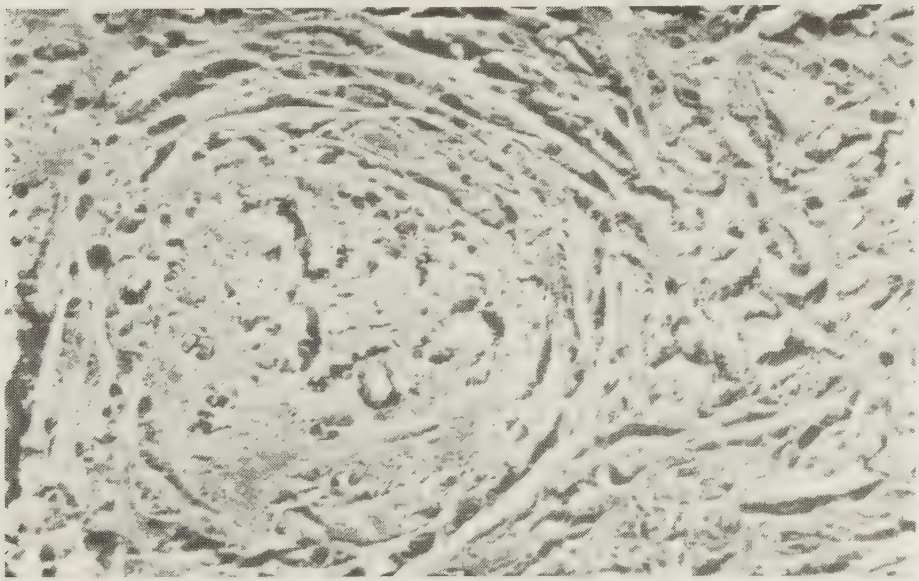


Abb. 5 Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme eines Sarkoidosegranuloms; Epitheloidzellen, periphere Fibrosierung.
Ungefärbter Paraffinschnitt, Vergr. 692-fach

In der weiteren Entwicklung des Granuloms ändert sich dann die Ultrastruktur der Epitheloidzellen. Die Lysosomen verschwinden, die Anzahl der Mitochondrien und ihr Gehalt an Cristae verringert sich, ihre äußere Form verliert an Regelmäßigkeit. Im Cytoplasma dominieren große Vakuolen, die ein mitteldicht feinstgranuläres bis feinstfädiges Material enthalten.

Gleichzeitig beginnt in der Peripherie jener Prozeß, der nach dem lichtmikroskopischen Bild als hyaline Transformation bezeichnet wird. Elektronenmikroskopisch treten besonders an den Rändern der Granulome zunehmend länglichere Zellformen auf. In deren Cytoplasma läßt sich jetzt vermehrt ein rauhwandiges endoplasmatisches Retikulum erkennen, welches mit größeren, ein feingranuläres Material enthaltenden Cisternen kommuniziert. Wegen dieser Strukturmerkmale wird diese Ausprägung der Epitheloidzellen häufig als plasmozytoider Typ bezeichnet.

Nun bilden die Epitheloidzellen zwar die Hauptmasse des Sarkoidosegranuloms, stellen aber nur eine Komponente der Gesamtmorphologie dar. Sicher müssen dazu auch die peripheren Zellen und Strukturen wie Lymphozyten, Monozyten bzw. Histiozyten, die benachbarten Blut- und Lymphgefäße, die Bindegewebszellen und die zellfreie Zone des amorphen Hyalins der späten Granulomentwicklung gerechnet werden.

Nach den Untersuchungen von MORGENROTH und FASSKE (MORGENROTH u. FASSKE 1974), die besonders die Beziehungen des Granuloms zu den Blutgefäßen der unmittelbaren Nachbarschaft untersuchten, bildet sich um diese Gefäße eine Zone aus mehreren, gleichmäßig breiten Lamellen mit gleichem Aufbau wie die dem Gefäßendothel anliegende Basallamelle. Diese Zone, die gestützt auch auf die immunhistologischen Untersuchungen von WANSTRUP und ELLING (WANSTRUP u. ELLING 1968) als Immunpräzipitationszone gedeutet wurde, geht dann über in

eine Schicht, die aus einem filamentären Material besteht, woran sich schließlich die breite Zone der Kollagenfasern mit den faserproduzierenden Fibroblasten anschließt.

Hinsichtlich der das Granulom umgebenden Lymphozyten konnte auch beim Sarkoidosegranulom ein höherer Aktivitätszustand dieser Zellpopulation gezeigt werden (SOLER et al. 1976). Das Cytoplasma der Lymphozyten enthält oft einen gut entwickelten Golgi-Apparat, ein rauhes endoplasmatisches Retikulum und einige Polyribosomen.

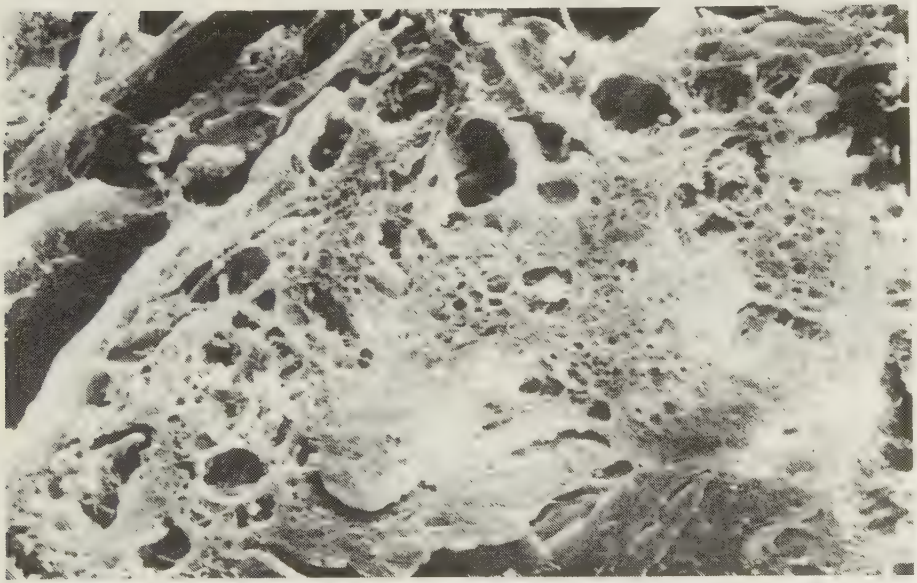


Abb. 6 Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme eines Sarkoidosegranuloms; Granulomrandbereich, vakuolisierte und miteinander stark verflochtene Epitheloidzellen, scharfe Abgrenzung zur Faserzone.
Ungefärbter Paraffinschnitt, Vergr. 2400-fach

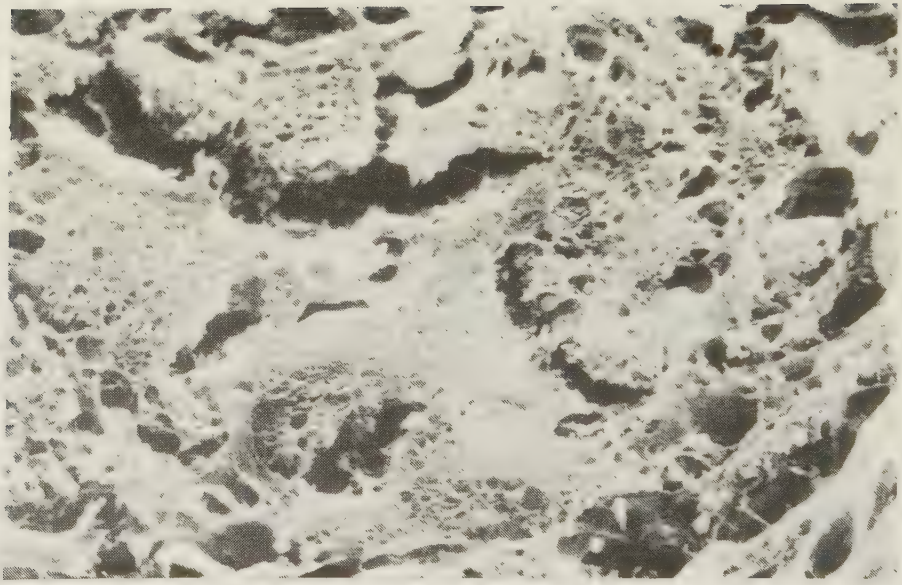


Abb. 7 Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme eines Sarkoidosegranuloms; mehrere große Epitheloidzellen mit vesikelreichem Cytoplasma, zahlreiche interzelluläre Brücken.
Ungefärbter Paraffinschnitt, Vergr. 3400-fach

## 2. Fragestellung

Granulomatöse-epitheloidzellige Reaktionen treten beim Menschen in großer Vielfalt auf; es kann zwischen sicher infektiösen Granulomatosen und solchen, die als Ausdruck einer allgemeinen Hypersensitivitätsreaktion auftreten, unterschieden werden; Granulome bilden sich als Reaktion auf in den Organismus eingedrungene Fremdkörper oder als Begleitreaktion bei malignen Erkrankungen. Nach morphologischen Kriterien lassen sich - mit Einschränkungen im Einzelfall - überwiegend epitheloidzellige, vorwiegend histiozytäre oder gar histiozytär-granulozytär-epitheloidzellige Mischformen differenzieren (MÜLLER-HERMELINK u. KAISERLING 1980).

Zytogenetische und formalpathogenetische Untersuchungen zur granulierenden und granulomatösen Entzündung liegen in größerer Zahl vor (z.B. WOLFART 1964, GUSEK 1964, SPECTOR u. LYKKE 1966, BÜCHER 1971, SPECTOR 1980).

Sofern versucht wurde in die Dynamik des entzündlichen Prozesses einzudringen, wurden die Untersuchungen an experimentellen Granulomen mit bekanntem auslösendem Agens, meist im Tierversuch, durchgeführt.

Für das Sarkoidosegranulom gibt es im Gegensatz dazu zur Zeit kein experimentelles Modell, von dem behauptet werden könnte, daß es mit dem Krankheitsgeschehen beim Menschen identisch oder zumindest gleichbedeutend sei. Zur Überprüfung der proliferativen Aktivität des Sarkoidosegranuloms kommt somit nur "originäres",d.h. menschliches Gewebe in Betracht.

Der Wert der Verwendung radioaktiver Vorläufer (Precursoren), Substanzen, die in bestimmte Zellbestandteile eingebaut werden, hat sich seit Jahren - in Verbindung mit der Autoradiographie - als sichere Methode in zahlreichen zellproliferationskinetischen Untersuchun-

gen bewährt. Durch zeitversetzte Gabe markierter Substanzen oder durch den Einsatz verschiedenartiger radioaktiv-markierter Precursoren konnte die Aussagewertigkeit solcher experimenteller Anordnungen noch erheblich erweitert werden. Der Einsatz dieser zum Teil diffizilen in-vivo-Verfahren verbietet sich naturgemäß beim Menschen; es muß hier auf in-vitro-Anordnungen übergegangen werden.

Mit der später näher ausgeführten Versuchsanordnung sollen im Rahmen dieser Arbeit folgende Fragestellungen am Sarkoidosegranulom untersucht werden:

- Welches sind die proliferativen, stoffwechselaktiven Zellfraktionen bei der granulomatösen Reaktion?

- Ergeben sich im stadienmäßigen Ablauf der Sarkoidose proliferationskinetisch Unterschiede hinsichtlich der vorkommenden Zelltypen, und gibt das Proliferationsverhalten Aufschlüsse im Hinblick auf den Entwicklungsgang des Granuloms, auf Granulomentstehung und Granulomwandlung?

- Lassen sich aus dem Proliferationsverhalten Rückschlüsse auf die Herkunft (lokal oder aus dem Blutstrom) der granulombildenden Zellen ablesen?

# 3. Material und Methode

## 3.1. Herkunft des untersuchten Materials

Das untersuchte Material stammt ausschließlich von menschlichen Lymphknoten, die bei einer Mediastinoskopie gewonnen wurden.

Bei den untersuchten Fällen, die im folgenden einzeln dargestellt werden, handelt es sich um Patienten und Patientinnen, die zur Diagnostik bzw. Diagnosesicherung einer Sarkoidose oder zum Ausschluß eines anderweitigen Prozesses (z.B. eines malignen Lymphoms) in der Ruhrlandklinik Essen-Heidhausen ambulant und stationär untersucht wurden.

Lediglich das Material zu Fall Nr. 1o stellte uns freundlicherweise Herr Prof. Hupe, Paracelsusklinik in Marl, zur Verfügung.

Keiner der Patienten stand zum Zeitpunkt der Operation unter einer immunsuppressiven oder anderweitigen Therapie. Der Zeitpunkt des operativen Eingriffs bewegte sich bei allen Fällen zwischen 8 und 11 Uhr vormittags; eine tageszeitliche Beeinflussung der Proliferationskinetik der untersuchten Gewebeproben ist daher äußerst unwahrscheinlich.

Fall Nr. 1: H.U., männlich, 22 Jahre

Einweisung zur Sicherung der Diagnose; bei der Bronchoskopie konnte kein die Diagnose sicherndes Material gewonnen werden; Tine-Test negativ; im Röntgenbild der Thoraxorgane polyzyklische Vergrößerung der Hiluslymphknoten.

Fall Nr. 2: H.G., männlich, 37 Jahre

Einweisung zur Sicherung der Diagnose; negatives Ergebnis der Leberbiopsie; Tine-Test negativ; röntgenologisch beidseitige Vergrößerung der Lymphknoten des Lungenhilus.

Fall Nr. 3: St.M., weiblich, 21 Jahre

Sicherung der Diagnose Morbus Boeck/Ausschluß eines Morbus Hodgkin als Einweisungsgrund; bei einer vorangegangenen Leberbiopsie kein in der Fragestellung verwertbares Ergebnis; Tine-Test negativ; röntgenologisch beidseitige Hilusvergrößerung.

Fall Nr. 4: H.R., männlich, 22 Jahre

Stationäre Einweisung wegen des Verdachts auf Lungentuberkulose; Tine-Test positiv.

Fall Nr. 5:

Einweisung zum Ausschluß eines malignen Lymphoms; Tine-Test negativ; einseitige Hilusverbreiterung.

Fall Nr. 6: W.M., weiblich, 57 Jahre

Verdacht auf Progredienz der Sarkoidose, die aber bisher noch nicht histologisch gesichert worden war. Differentialdiagnostischer Ausschluß einer Tuberkulose; Tine-Test positiv; röntgenologisch Bild der "getüpfelten Lunge".

Fall Nr. 7: H.M., weiblich, 2o Jahre

Anläßlich einer Personaluntersuchung Feststellung einer beidseitigen Verbreiterung des Lungenhilus; Einweisung zur Sicherung der Diagnose; Tine-Test positiv.

Fall Nr. 8: Sch.K., männlich, 3o Jahre

Mehrere Monate antituberkulotische Behandlung wegen des Verdachts einer Lungentuberkulose; röntgenologisch Schwielenbildungen in beiden Lungenoberfeldern. Bei den Kontrolluntersuchungen keine Änderung der Befunde; Mediastinoskopie zur differentialdiagnostischen Abklärung Tuberkulose/ Sarkoidose.

Fall Nr. 9: M.H., männlich, 21 Jahre

Röntgenologisch Verbreiterung des Lungenhilus, bei einer Röntgen-Reihenuntersuchung als Zufallsbefund festgestellt; klinisch keinerlei Beschwerden.

Fall Nr. 1o: L.M., weiblich, 47 Jahre

Anläßlich der Personaluntersuchung Feststellung einer beidseitigen polyzyklischen Hilusverdichtung; im Galliumszintigramm deutliche Aktivitätsanreicherung in Übereinstimmung mit der röntgenologischen Hiluskonfiguration; Tine-Test positiv; keine Beschwerden.

Fall Nr. 11: L.U., weiblich, 32 Jahre

Stationäre Krankenhausaufnahme wegen unklarer Fieberschübe; nach wenigen Tagen akutes Nierenversagen, welches sich unter symptomatischer Therapie bessert. Röntgenologisch polyzyklische Verbreiterung des Lungenhilus beidseits; Tine-Test positiv; Zustand nach Absetzen eines Ovulationshemmers; Punktion der vergrößerten rechten Niere zur Abklärung des akuten Nierenversagens wird von der Patientin abgelehnt.

3.2. In-vitro-Kurzinkubation

Das bei der Mediastinoskopie entnommene Lymphknotengewebe wurde sofort nach der Entnahme geteilt und zum einen Teil mit Hilfe von zwei Skalpellen in mehrere kleine, würfelförmige Blöckchen mit einer Kantenlänge von etwa 1 mm zugeschnitten. Der andere Teil wurde zur üblichen histologischen Aufarbeitung und Befundung in Formalin fixiert und später in Paraffin eingebettet.

Im Gegensatz zu anderen Untersuchern (BLAESER 1975, FRANK 1975) konnten wir auf eine Herabkühlung des Materials, die, um der Cytolyse zu begegnen, notwendig gewesen wäre, verzichten, da es uns möglich war, die Zeitspanne von der Gewebeentnahme bis zum Beginn der Inkubation auf vier Minuten zu verkürzen. Dies ließ sich dadurch erreichen, daß wir die gesamte Inkubationsapparatur (Wasserbad, Schüttelvorrichtung und Sauerstoffversorung) in eine in unserer Abteilungswerkstatt hergestellte Vorrichtung einließen, so daß das gesamte System transportabel wurde. Da es so möglich war, mit dem eigentlichen Inkubationsvorgang bereits im Operationssaal zu beginnen, erwies sich eine weitergehende Vorsorge zur Verhinderung des Zellzerfalls als überflüssig.

Die zugeschnittenen Gewebeblöckchen (etwa 5 - 7 je Fall) wurden dann in vorbereitete Versuchsansätze gegeben: in speziell angefertigte zylindrische Aluminiumkolben von 55 mm Länge, 16 mm Innendurchmesser und 3 mm Wandstärke gaben wir je Versuchsansatz 2 ml Nährmedium TC Medium 199 von 3o - 35 Grad Celsius. Dieser Nährlösung war zuvor unter Verwendung von einer Tuberkulin-Einmalspritze H-3-Thymidin (New England Nuclear, Boston, Massachusets, USA; Spez. Aktivität 2o Ci/mmol, Rad. Konz. o,25 µCi/o,5 ml) zugesetzt worden, in einer Aktivitätsdosis von 1o µCi/Ml, welches einer Dosis von 2o µCi/Versuchsansatz entspricht.

Die präparierte Nährlösung wurde außerhalb der Versuchszeiten im Kühlschrank aufbewahrt.

Bei dem verwendeten Inkubationssystem handelt es sich um ein statisches Sauerstoff-Überdrucksystem (2,o atü), das während des Inkubationsvorganges zu keiner nennenswerten Verschiebung des ph-Wertes im Inkubationsgemisch führt, zumal wenn die Inkubation nicht übermäßig ausgedehnt wird. (BLAESER 1975).

Der apparative Teil des Systems besteht aus dem schon erwähnten Aluminiumkolben und einer Aluminiumüberwurfmutter, in die ein Glaskolben mit Gummidichtung zum Kolbenhals eingelassen wurde. Über den Glaskolbenhals wurde die Sauerstoffzuleitung mittels eines festen Plastikschlauches verschraubt. Die gesamte Apparatur wurde dann auf eine Schüttelvorrichtung nach dem Prinzip der Warburg-Apparatur befestigt. Ein Elektromotor ermöglichte ein gleichmäßiges Hin- und Herbewegen des Kolbens (Frequenz 6o/min.) im Wasserbad, das durch ein mit einer Heizspirale verbundenes Thermometer konstant auf 37 Grad Celsius gehalten wurde.

Als Inkubationszeit wählten wir die Dauer von 15 Minuten, die auch nach den Beobachtungen anderer Autoren als ausreichend für den Einbau des H-3-Thymidins in DNS-synthetisierende Zellen angesehen werden kann (PELC u. APPELTON 1965, KLEIN et al. 197o). Eine längere Inkubationszeit führt nach eigenen Erfahrungen unter den dargestellten Bedingungen zu einer solchen Zunahme der Cytolyse, daß die zu erwartende Zunahme des H-3-Thymidin-Einbaues wieder aufgehoben wird, ganz abgesehen von der deutlich schlechteren histologischen Befundbarkeit.

Am Ende der Inkubationszeit wurde das Druckventil vorsichtig geöffnet und das radioaktive Gemisch in bereitgestellte Sammelgefäße abgegossen, die noch radioaktive Restflüssigkeit mit den kontaminierten Blöckchen herausgespült und diese dann mindestens dreimal mit H-3-Thymidin-freier Nähr-

lösung gewaschen. Schließlich wurde die Spül- und Waschlösung vollständig entfernt, und die Gewebeblöckchen wurden in vierprozentiger, gepufferter Glutaraldehydlösung fixiert.

### 3.3. Histologische Präparation

Die in vierprozentigem Glutaraldehyd fixierten Gewebeblöckchen wurden später gemeinsam in der für die Elektronenmikroskopie üblichen Art und Weise aufgearbeitet: nach der etwa zwölfstündigen Wässerung zur Entfernung des Fixationsgemisches erfolgte die erneute Fixierung mit zweiprozentiger Osmiumtetroxydlösung für zwei Stunden.

Daran schloß sich nach einer neuerlichen Entwässerung die Einbettung der Gewebeproben an.

Zur Entwässerung und Einbettung bedienten wir uns eines Einbettungsautomaten (Benjamin II), der wie folgt programiert wurde:

15 Min. Aqua dest.
15 Min. Aqua dest.
15 Min. gesättigte Uranylacetat-Lösung
15 Min. Aqua dest.
15 Min. Aqua dest.
2 x 1o Min. 3o % Äthylalkohol
2 x 1o Min. 5o % Äthylalkohol
2 x 1o Min. 7o % Äthylalkohol
2 x 1o Min. 9o % Äthylalkohol
2 x 1o Min. 95 % Äthylalkohol
2 x 15 Min. 1oo % Äthylalkohol
2 x 15 Min. Propylenoxyd
24 Std. Gemisch Epon 812/Propylenoxyd im Verhältnis 1 : 1

Die Blöckchen wurden dann in Plastikkapseln mit pyramidenförmiger Zuspitzung gebracht, welche anschließend mit dem Kunstharz EPON 812 ausgegossen wurden. Nach der Auspolymerisierung des Harzes bei 6o Grad Celsius mittels Heizplatte stellten wir mit dem Ultramikrotom (Firma Reichert) o,5 bis 1 µm dicke Schnitte (Semidünnschnitte) her.

Einige Schnitte wurden gleich anschließend mit Methylenblau angefärbt und orientierend lichtmikroskopisch betrachtet.

### 3.4. Autoradiographie

Die Autoradiographie ist eine Methode, bei der Kernspuremulsionen mit radioaktiv markierten biologischen oder anderen Objekten in engen Kontakt gebracht werden; als Autoradiogramme werden die in der Photoemulsion entstehenden, photographisch entwickelten Schwärzungsbilder bezeichnet, die sich dann bestimmten Geweben, Gewebebestandteilen, Zellen oder Zellelementen zuordnen lassen.

Von den in EPON 812 eingebetteten Gewebeblöckchen stellten wir nunmehr reichlich Semidünnschnitte her, die ungefärbt auf gereinigte Glasobjektträger aufgezogen wurden. Danach wurden diese Objektträger in der Dunkelkammer nach der "Dipping"-Methode mit einer Photoemulsion beschichtet (MESSIER u. LEBLOND 1957, KOPRIWA u. LEBLOND 1967). Als Emulsion wählten wir die Photoemulsion Ilford K 2 in Gelform mit einem mittleren Kristalldurchmesser von o,2o µm. Die Emulsion wurde bei einer Temperatur von 4o - 45° C verflüssigt und mit Aqua dest. in einem Verhältnis 1 : 1 verdünnt. Mit dieser Vorgehensweise ließ sich eine ausreichende Dünnflüssigkeit der Emulsion erreichen, ohne daß es zu einer stärkeren Untergrundbildung oder unregelmäßigen Kristallverteilung beim Trocknungsprozeß kam, was wir bei Versuchen mit

höherer Schmelztemperatur bzw. höherer Verdünnung beobachten konnten.

Da nicht mit einer in allen Präparaten dichten Markierung gerechnet werden konnte, erwies sich ein Arbeiten in völliger Dunkelheit als notwendig, um den Nullwert (Untergrund) so gering wie möglich zu halten.

An die Beschichtung schloß sich die Exposition der Autoradiogramme an. Als Expositionszeit hielten wir für alle Präparate einen Zeitraum von 55 Tagen ein. Eine Ausdehnung der Exposition über diesen Zeitraum hinaus führte bei den stärker markierten Präparaten zu einer solchen Silberkorndichte, daß eine exakte Zellzuordnung nicht mehr gegeben war.

Die beschichteten Objektträger wurden während der Exposition in lichtundurchlässigen Behältern bei $4^{\circ}$ C aufbewahrt.

Nach Ablauf der Expositionszeit erfolgte die Entwicklung. Dazu benutzten wir einen nach der Formel G 2o1 (Agfa Gevaert) selbst hergestellten Entwickler. Die Entwicklungsdauer betrug 1o Minuten bei einer Entwicklertemperatur von $2o^{\circ}$ C; der Entwicklungsprozeß wurde gestoppt durch Wässerung der Objekte in 1 %-iger Eisessig-Lösung. Danach erfolgte die Fixation in einer wäßrigen Lösung aus Natriumthiosulfat. Das Fixiersalz wurde anschließend durch zehnminütige Nachwässerung entfernt. Die Objektträger wurden dann zum Trocknen aufgestellt.

Die entwickelten Autoradiogramme wurden im nächsten Arbeitsschritt durch die Emulsionsschicht hindurch gefärbt. Wir bedienten uns dabei überwiegend der von MORGENROTH (MORGENROTH et al. 197o) angegebenen Methode der Färbung mit Methylenblau und der Gegenfärbung mit basischem Fuchsin. Mehrere Objekte wurden auch nur mit Methylenblau angefärbt. Bei Anwendung der Doppelfärbung erwies

es sich als notwendig, die Gegenfärbung etwas zu modifizieren, da einerseits bei einer wie in der Methode angegebenen Erhitzung der Fuchsinlösung auf 80° C die Emulsion sofort abgeschmolzen wäre, andererseits aber die Emulsion den Farbstoff derart intensiv aufnahm, daß mit der Gegenfärbung jegliche Differenzierung der Zellelemente unmöglich wurde. Wenn jedoch die Objektträger nach der Methylenblaufärbung nur kurz abgespült wurden und dann sofort für nur knapp eine Sekunde in immer wieder erneuerte Fuchsinlösung von Zimmertemperatur getaucht und gleich anschließend in 99 %-ige Methanollösung zur Entfernung des überschüssigen Farbstoffes gegeben wurden, ließ sich ein gutes, wenn auch nicht immer einheitliches, färberisches Ergebnis erzielen.

Die so gefärbten Präparate wurden endlich kurz in Xylol eingetaucht, in Eukit eingeschlossen und mit einem dünnen Deckglas versehen.

# 4. Befunde und Auswertung

## 4.1. Auswertungsverfahren

Von jedem der Fälle wurden insgesamt 5o histologische Schnitte in die Auswertung aufgenommen. Da von der Gesamtgewebeprobe eines jeden Falles etwa 5 - 7 Blöckchen hergestellt worden waren, gelangten damit von jedem Gewebeblöckchen im Durchschnitt 7 - 1o Schnitte zur Auswertung.

Das histologische Bild im Semidünnschnitt variierte innerhalb der Gewebeprobe eines jeden Falles nur gering.

Stichprobenhaft wurden die markierten und unmarkierten Zellen im histologischen Schnitt ausgezählt. Dabei wurde die jeweilige Zählfläche definiert durch ein Photorechteck des Mikroskopokulars. Dieses Rechteck wurde im Schnitt so plaziert, daß vornehmlich die randlichen Partien des Präparates im Schnitt bedeckt wurden; von den zentraleren Abschnitten war - bedingt durch die zum Gewebezentrum hin abnehmende Sauerstoffdiffusion bei der Inkubation - eine unsicherere Markierung und eine damit nur eingeschränkte Aussage über das proliferative Verhalten zu erwarten.

### 4.1.1. Festlegung der Zelltypen

Die Differenzierung der einzelnen Zelltypen erfolgte am in Epon eingebetteten Semidünnschnitt. Die etwa o,6 bis 1,o µm dicken Schnitte wurden überwiegend nach der von MORGENROTH et al. (197o) angegebenen Methode gefärbt. Durch den hohen Kontrast dieser Färbung lassen sich auch lichtmikroskopisch Kern- und Cytoplasmastrukturen gut beurteilen.

Unter Beachtung der in der Literatur angegebenen Definitionen (GUSEK 1962, LEDER 1967, BÜCHER 1971, BUCHER 1973,

SOLER 1976) und aufgrund der eigenen Beobachtungen am Untersuchungsgut wurden im einzelnen folgende Zelltypen unterschieden:

Lymphozyten:

Dunkel angefärbte, kugelige Zellen mit einem Durchmesser von etwa 7 - 12 µm. Der Zellkern besitzt eine dichte Chromatinstruktur, gelegentlich zeigt er eine seitliche kleine Einkerbung, selten stellt sich ein Nukleolus dar. Das Zytoplasma besteht nur aus einem schmalen, schwach basophilen Saum.

Die Zellgruppe der Lymphozyten bildet bei dem untersuchten Gewebe (Lymphknoten) die "einheimische" Population. Es handelt sich wohl überwiegend um T-Lymphozyten, wie durch eingehende Untersuchungen gezeigt werden konnte (HEDFORS et al. 1974, MÜLLER-HERMELINK et al. 198o).

Bei der Auszählung wurde auf eine Differenzierung in kleine und große Lymphozyten verzichtet.

Monozytoide (mononukleäre) Rundzellen:

In dieser Gruppe zusammengefaßt wurden Monozyten und Histiozyten bis zur Differenzierungsstufe des Makrophagen.

Die Monozyten zeigen eine starke morphologische Variabilität; ihre durchschnittliche Zellgröße wird mit 12 - 2o µm angegeben. Trotz der möglichen Vielfalt, gerade wenn Monozyten im Gewebe auftauchen, wird ihre Kerngestalt oft als nierenförmig beschrieben, seine Lage als exzentrisch. Das Karyoplasma erscheint schollig; das dunkle, basophile Zytoplasma ist unterschiedlich breit. In dieser Form werden Monozyten im Blut oder im Lumen von im Semindünnschnitt mitgetroffenen Gefäßquerschnitten beobachtet.

Die Bezeichnung Histiozyt und Makrophage werden oft synonym gebraucht. Es handelt sich morphologisch dabei um 15 - 2o µm große Zellen mit einem großen, im Vergleich mit den vorgenannten, mehr aufgelockerten, meist ovalären oder gelappten Kern. Das Zytoplasma erscheint leicht basophil, häufig lassen sich netzartige Aufhellungen und kleine Vakuolenbildungen erkennen. Dies ist umso mehr der Fall, je weiter die Differenzierung zum großen Makrophagen fortschreitet. Dabei wird auch der Zellkern durchscheinender und ein Nukleolus stellt sich öfter dar.

Epitheloidzellen:

In diese Gruppe eingeordnet wurden all jene großen Zellen mit polygonalem, schwach basophilem, oft vakuolisiertem Zytoplasma und dem großen, feingezeichneten, schuhsohlenartigen, deutlich abgegrenzten Kern. Dieser Kern bestitzt oft einen, gelegentlich auch bis zu zwei Nukleolen. Die Zellgröße variiert sehr, die Größenordnung reicht von 15 µm bis zu 4o µm. Die Zytoplasmagrenzen sind im Gegensatz zu den Kerngrenzen nicht scharf definierbar. Im Gewebsverband sind die Zellen epithelartig angeordnet, gelegentlich sind Zytoplasmaausläufer auszumachen. Epitheloidzellen bilden die Hauptmasse eines Granuloms. Im Bezug auf das Granulom haben wir zwischen peripheren Epitheloidzellen, dazu gehören die beiden äußeren Zellreihen, und den zentralen Epitheloidzellen unterschieden.

Riesenzellen:

Riesenzellen besitzen mehrere Kerne; diese Kerne liegen überwiegend exzentrisch bzw. hufeisenförmig im Riesenzellzytoplasma. Manchmal finden sie sich aber auch durchaus mitten im aufgehellten Zellinneren. Die Kernstruktur entspricht der der Epi-

theloidzellen. Neben der deutlich erkennbaren Vakuolisierung des Zytoplasmas lassen sich in diesem selten auch recht typische Strukturen wie "asteroid bodies" oder sog. Schaumann-Körperchen erkennen. Riesenzellen liegen im Granulom vorwiegend zentral.

Fibrozyten/Fibroblasten:

Zu den fibrozytären Zellen werden jene oft vereinzelt liegenden, länglichen, spindelförmigen Zellen gezählt. Die Kerne sind deutlich kleiner als die der Epitheloidzellen oder Histiozyten. Die Zellform erscheint über dem Kern bauchig aufgetrieben, an den Enden läuft das basophile Zytoplasma zipfelig aus.

Die Zellklasse der Fibrozyten/Fibroblasten findet sich vornehmlich in den randlichen Granulomabschnitten, umgeben von einer unterschiedlich dichten Zone kollagener Fasern.

Adventitialzellen:

Von der äußeren Form her gleichen diese den Fibrozyten. Sie liegen an der Oberfläche der Blutkapillaren, scheinen die Gefäße zu umfassen. Wie die Fibrozyten besitzen sie einen ovoiden Zellkern.

4.1.2. Auswertungsgrößen

Die Stichproben wurden unter den folgenden Gesichtspunkten ausgezählt:

a) In einer ersten Zählung wurden alle im Zählfeld liegenden Zellen - markierte und unmarkierte - erfaßt und nach den Zelltypen getrennt aufgelistet, so daß sich ein Gesamtbild der zellulären Zusammensetzung des Gewebes ergibt. Aus den so erhaltenen Häufigkeitstabellen wurde dann der prozentuale Anteil eines jeden Zelltyps am Gesamtkollektiv eines Falles rechnerisch ermittelt (p-%).

Durch Addition ließ sich darüber hinaus der prozentuale Anteil aller Zellen eines Zelltyps an der Gesamtzellzahl aller Fälle einfach bestimmen (Gesamt-p-%).

b) In einer zweiten Zählung wurden nur die markierten Zellen beachtet und ebenso nach Zelltypen geordnet aufgelistet.

Der prozentuale Anteil der markierten Zellen an der Gesamtheit der Zellen gleicher Art von einem untersuchten Fall ergibt dann den H-3-Thymidin-Index (H-3-Index). Dieser gibt die Wahrscheinlichkeit an, mit der eine Zellart in der Synthese-Phase des Zellzyklus angetroffen wird. Die proliferative Aktivität eines Gewebes wird mit diesem Index erfaßt.

Als Gesamt-H-3-Index bezeichneten wir den prozentualen Anteil der markierten Zellen einer definierten Zellart am Gesamtkollektiv aller ausgezählten Zellen dieses Zelltyps (alle Fälle).

Die häufig angewandte Methode der Bestimmung eines Mitose-Indexes als weiteres Maß der proliferativen Aktivität eines Gewebes, meist eines Gewebes mit hohem Zellumsatz (z.B. Tumorgewebe), war bei den von uns unter-

suchten Geweben nicht möglich, da keine Mitosefiguren beobachtet werden konnten. Im allgemeinen kommt aber dem H-3-Index, besonders natürlich bei langsam proliferierenden Prozessen, auch eine höhere Aussagewertigkeit zu, da mit ihm Aktivität in der gegenüber der Mitosephase 8 - 15 mal längeren Synthesephase des Zellzyklus erfaßt werden kann (SCHULTZE u. OEHLERT 196o, SCHULTZE 1968).

## 4.2. Lichtmikroskopische Befunde

Vom Lymphknotengewebe aller Fälle waren - neben den in EPON 812 eingebetteten Proben - auch Gewebeproben in Paraffin eingeschlossen worden. Von diesen Gewebeblöckchen lagen zur Diagnose herkömmliche histologische Schnittpräparate in einer Hämatoxylin/Eosin- und in einer Elastica-v. Gieson-Färbung vor.

Fall Nr. 1

Die lymphatische Struktur ist bis auf einige randliche Abschnitte zerstört und zahlreiche, sehr dichtstehende, epitheloidzellige Granulome, welche abschnittsweise zu größeren Bezirken konfluiert sind. Größere zentrale Nekrosen fehlen; nicht selten finden sich hingegen in den zentraleren Abschnitten der Granulome mehrkernige Riesenzellen vom Langhans-Typus. Die randlichen Partien der Granulome zeigen eine deutliche zirkuläre Fibrosierung.

Fall Nr. 2

Das Lymphknotengewebe ist durchsetzt von meist einzelnstehenden Granulomen. Diese Granulome zeigen keine zentrale Nekrose. Sie werden aus recht vielen typischen Epitheloidzellen aufgebaut und weisen nur sehr vereinzelt Langhans'sche Riesenzellen auf. Der Grad der randlichen Fibrosierung variiert von geringer Faservermehrung bis zu deutlicher Konglomeratbildung.

Fall Nr. 3

Völlige Aufhebung der Lymphknotenstruktur; statt dessen zahlreiche epitheloidzellige Granulome, die oft nur eine geringe Anzahl typischer, vakuoliger Epitheloidzellen aufweisen. Dafür finden sich aber in vielen Granulomen mehrkernige Riesenzellen (mit bis zu 3o Kernen) von

bizarrem Aussehen. Gelegentlich gleichen diese mehr den Riesenzellen vom Fremdkörper-Typus, überwiegend aber sind es doch solche vom Langhans-Typus. Die randliche Fibrosierung ist deutlich ausgeprägt.

Fall Nr. 4

Das Lymphknotengewebe ist durchsetzt mit epitheloidzelligen Granulomen ohne zentrale Nekrose. Die Granulome werden fast ausschließlich aus regelrechten Epitheloidzellen aufgebaut; eine wesentliche Riesenzellbildung wird nicht beoabachtet. Die randliche Fibrosierung ist nur sehr spärlich entwickelt.

Fall Nr. 5

Kein lymphatisches Gewebe mehr erkennbar; dicht an dicht finden sich epitheloidzellige Granulome, teils mit deutlicher Tendenz zur Bildung großflächigerer Strukturen durch Granulomkonfluenz. Eine zentrale Nekrose läßt sich nicht nachweisen. In den zentralen Anteilen erscheinen gelegentlich Riesenzellen. Die periphere Fibrosierungszone ist äußerst spärlich entwickelt.

Fall Nr. 6

Die Lymphknotenstruktur ist weitestgehend noch erhalten, in der Mantelzone des Lymphknotens vereinzelt Follikel mit Keimzentren. Die Sinus sind erweitert, die Uferzellen etwas geschwollen. Herdförmig sieht man Ablagerung anthrakotischen Pigmentes. In einem randlichen Abschnitt des Lymphknotens finden sich - ohne strenge Zuordnung zu einer bestimmten Struktur - Ansammlungen von meist drei bis fünf größeren Zellen mit unscharfer Zytoplasmabegrenzung, großem Kern mit deutlich erkennbarer Karyoplasmagrenze, feinverteiltem Chromatin und hervortretendem Nukleolus. Die Zellen entsprechen vom Aussehen her Epitheloidzellen. (Im Semidünnschnitt wird durch die bessere

Darstellung der Zellgrenzen die epithelartige Verbindung dieser Zellkomplexe deutlicher erkennbar.)

Fibrosierungen kommen hier nicht zur Beobachtung.

Fall Nr. 7

Das von paratracheal rechts entnommene Lymphknotengewebe ist vollständig durchsetzt von zahlreichen, teils konfluierten Granulomen. Diese werden gebildet von großen Epitheloidzellen, hin und wieder eine Riesenzelle vom Langhans-Typus; keine zentrale Nekrose erkennbar. Das Ausmaß der randlichen Fibrose ist nur sehr gering, lediglich in der Faserfärbung zeigt sich herdförmig etwas Faserbildung.

Fall Nr. 8

Das Lymphknotengewebe ist unterschiedlich dicht von einzelnen, teils aber auch verschmolzenen Granulomen durchsetzt. Nicht selten erscheinen im Granulomzentrum Langhans'sche Riesenzellen; in den Granulomen keine Nekrosen. Der Grad der randlichen Fibrosierung ist unterschiedlich. In den äußeren Abschnitten des Lymphknotens finden sich einige Granulome mit erst beginnender oder nur schwach ausgebildeter hyaliner Transformation, der überwiegende Teil ist jedoch meist vollständig hyalin schwielig umgebaut. Typische Epitheloidzellen tauchen in diesen Abschnitten nur noch ganz vereinzelt auf.

Fall Nr. 9

Die lymphatische Struktur ist durch epitheloidzellige Granulome aufgehoben; nur sehr vereinzelt treten Riesenzellen vom Langhans-Typ auf. Die periphere hyaline Transformation wird in der Faserfärbung gerade erkennbar. Zentrale Nekrosen fehlen.

Fall Nr. 1o

Die lymphatische Struktur des Gewebes ist weitgehend zerstört. Einzelnstehend finden sich zahlreiche epitheloidzellige Granulome ohne zentrale Nekrose. In den zentralen Anteilen der Granulome sind häufiger Langhans'sche Riesenzellen mit vakuoligem Zytoplasma nachweisbar. Der Grad der peripheren Fibrose ist unterschiedlich. Neben Granulomen mit stärkeren hyalin-schwieligen Randbezirken finden sich auch noch relativ frische Abschnitte ohne randliche Fibrosierungszone.

Fall Nr. 11

Es handelt sich um einen weitgehend von Granulomherden durchsetzten Lymphknoten. Besonders in den randlichen Abschnitten sieht man noch frischere epitheloidzellige Granulome ohne zentrale Nekrose, nur stellenweise sind nicht sehr große Riesenzellen vom Langhans-Typ erkennbar. Die randliche Fibrosierung ist in diesen Gebieten nur spärlich entwickelt, im Gegensatz zu anderen Abschnitten, die deutlich größere Konglomeratschwielenbildungen aufweisen. In diesen Bezirken fortgeschrittener hyalin-schwieliger Umwandlung können auch keine Epitheloidzellen mehr ausgemacht werden. Zwischen dem homogenen Schwielenmaterial sind nur noch einige fibrozytäre Elemente erkennbar.

## 4.3. Ergebnis der Auszählung

### 4.3.1. Allgemeines

Einen Überblick über die Zellzählung und Zelldifferenzierung, die Anzahl der markierten Zellen und die Gesamtzahl der Zellen aller ausgewerteten Autoradiogramme in Einzeldarstellung für jeden Fall gibt die Tabelle Nr. 1. In dieser wie auch in den folgenden Tabellen werden die ausgezählten Epitheloidzellen einmal in der Gesamtzahl und dann auch getrennt nach ihrer Lage im Granulom-peripher oder zentral - angegeben.

Aus Tabelle Nr. 2 ist die Summe der ausgezählten Zellen aller Fälle, aufgelistet nach den verschiedenen Zelltypen, ersichtlich (L = Lymphozyten, Mo = mononukleäre Rundzellen, Epi = Epitheloidzellen, Lh = Langhans'sche Riesenzellen, Fib = fibrozytäre Zellen, Adv = Adventitialzellen bzw. gefäßwandassoziierte Zellen).

Darüber hinaus läßt sich aus dieser Tabelle der Anteil der markierten Zellen absolut und prozentual (H-3-Thymidin-Index) über alle Fälle und alle Zelltypen ersehen. Die prozentuale Häufigkeit der ausgezählten Zelltypen am Gesamtkollektiv der ausgewerteten Zellen (Gesamt-p-%) und der prozentuale Anteil der H-3-Thymidin-markierten Zellen, ebenfalls am Gesamtkollektiv der ausgezählten Zellen (Gesamt-H-3-Index), können der Tabelle Nr. 3 entnommen werden.

Die prozentuale Häufigkeit (p-%) der einzelnen Zelltypen bei den einzeln aufgeführten Fällen, die zelluläre Zusammensetzung der untersuchten Gewebsproben wird in Tabelle Nr. 4 dargestellt.

Tabelle Nr. 5 schließlich verzeichnet die prozentuale Häufigkeit der markierten Zellen bei jedem untersuchten Fall (H-3-Thymidin-Index oder H-3-Index).

### 4.3.2. Auswertung

Insgesamt wurden 29.995 Zellen bei allen untersuchten Autoradiogrammen ausgezählt, 2.727 Zellen im arithmetischen Mittel pro Untersuchungsfall.

Von den ausgezählten Zellen wiesen 28.185 keine Anzeichen einer Markierung auf; 1.818 Zellen waren eindeutig markiert. Der daraus rechnerisch zu ermittelnde Gesamt-Markierungsindex über alle ausgezählten Zellen beträgt 6,o35 %.

Eine quantitative Silberkornzählung der Autoradiogramme wurde nicht durchgeführt; es sei an dieser Stelle jedoch der Eindruck vermerkt, daß die in der Gruppe der Monozytoiden zusammengefaßten Zellen eindeutig die dichteste Silberkornbelegung aufwiesen.

Nicht alle unterschiedenen Zelltypen tragen in gleichem Umfang zu dem genannten Gesamt-Markierungsindex bei. Lymphozyten und Riesenzellen weisen in keinem Fall eine Silberkornmarkierung auf. Die in der Gruppe der mononukleären Zellen aufgeführten Zellen stellen mit 12,54 %, bezogen auf die Gesamtzahl der ausgezählten Zellen eines Zelltypes, die "proliferativste" Fraktion beim Sarkoidosegranulom mit Einbeziehung der unmittelbaren Granulomumgebung dar. Es folgen mit 7,71 % als am zweitstärkst vertretene Gruppe die eigentlichen Granulomzellen, die Epitheloidzellen. In der von uns durchgeführten Unterteilung in periphere und zentrale Epitheloidzellen wird deutlich, daß die im Granulom peripher gelegenen Zellverbände eine etwas höhere proliferative Aktivität (8,78 %) als die zum Granulomzentrum hin gelegenen Zellen (5,31 %) aufweisen.

Mit einem etwa gleich starken Anteil markierter Zellen sind fibrozytäre Zellen und die in der Rubrik der Adventitialzellen aufgeführten, gefäß- bzw. gefäßwandassoziierten Zellen vertreten.

Die Differenzierung nach Zelltypen ergibt unter Zugrundelegung aller untersuchten Fälle die im folgenden schematisch wiedergegebene Gesamtverteilung (Abb. Nr. 9).

Das zugehörige Markierungsprofil stellt die Abb. Nr. 1o schematisch dar.

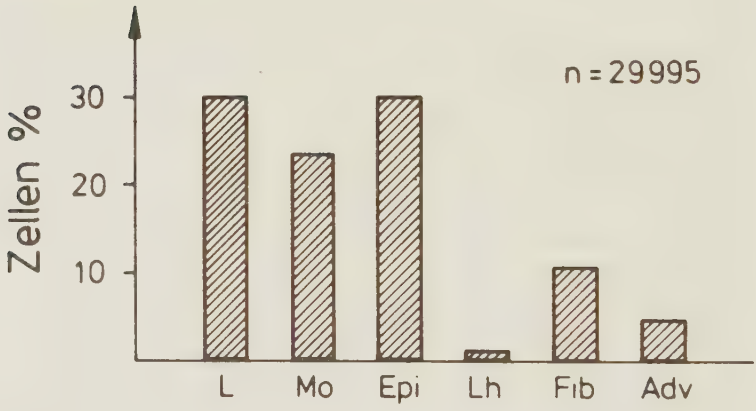



Abb. Nr. 9 : Prozentuale Häufigkeit der unterschiedenen Zelltypen, alle Fälle zusammengefaßt.

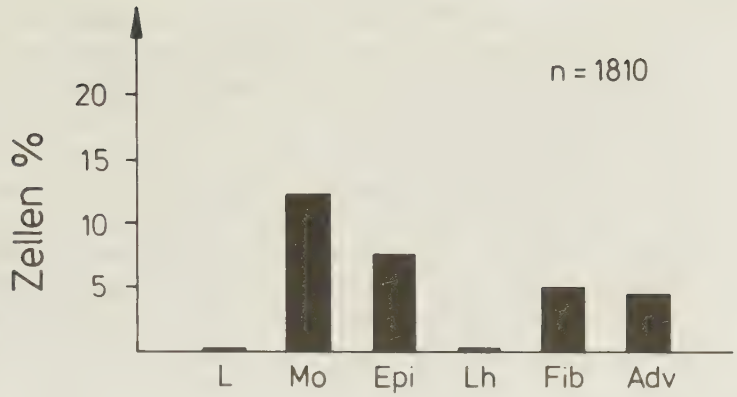



Abb. Nr. 10: Prozentuale Häufigkeit der H-3-Thymidin-markierten Zellen, alle Fälle zusammen-gefaßt.

Die in den Abbildungen Nr. 9 und Nr. 1o dargestellten Häufigkeitsverteilungen unter Zugrundelegung aller Fälle stellen eine grobe Vereinfachung der Verhältnisse im Einzelfall dar. Wie bereits aus der lichtmikroskopischen Befundung ersichtlich, unterscheiden sich die untersuchten Gewebeproben im histologischen Bild beträchtlich. Dies wird auch bei einem Blick in Tabelle Nr. 4 mit der Auflistung der Zellhäufigkeiten für jeden Fall deutlich. So ergeben sich für jeden Fall nicht nur charakteristische Zellprofile, sondern auch entsprechend kennzeichnende H-3-Thymidin-Markierungsmuster.

Dennoch lassen sich nach dem histologischen Bild wie auch nach dem Histogramm vier unterscheidbare Kategorien beim stadienmäßigen Ablauf des Sarkoidosegranuloms beschreiben:

1) Stadium der Exsudation

- die überwiegende Zellpopulation bilden Lymphozyten (im Lymphknoten residente oder frisch eingewanderte); monozytoide Rundzellen stellen die zahlenmäßig zweithäufigste Zellgruppe dar. Typische Epitheloidzellen zeigen sich bereits, prägen aber noch nicht das Zellbild wie in den späteren Stadien. Sie werden in der von uns durchgeführten Unterteilung sämtlich zu den peripheren Epitheloidzellen gezählt, da sich regelrechte, "saftige" Granulome noch nicht gebildet haben. In diese Kategorie des Frühstadiums gehört von den untersuchten Fällen der Fall Nr. 6; das Zellprofil dieses Falles ist in Abbildung Nr. 11 a dargestellt.

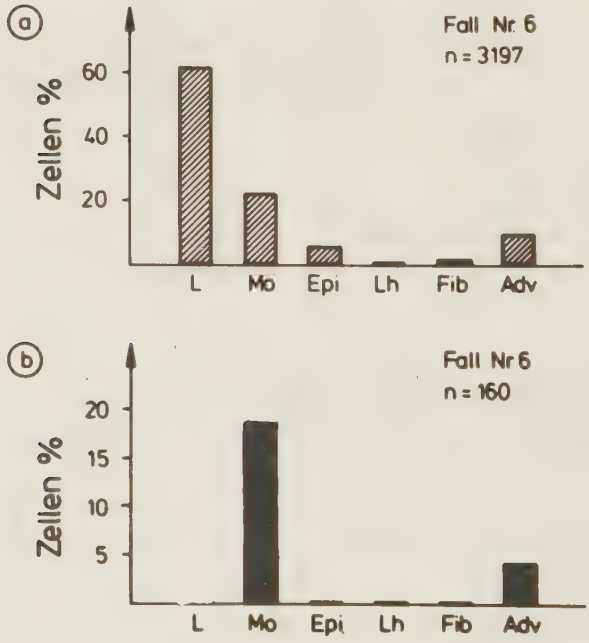



Abb Nr 11 Zellprofil (a) und H-3-Markierungsprofil (b) für den Fall Nr 6

- In der Beiordnung des Markierungsprofils (aus Tabelle Nr. 5, Abb. 11 b) zeigt sich in der Zellgruppe der Monozytoiden hier die höchste proliferative Aktivität (18,84 %); Epitheloidzellen sind zu 6,43 % markiert. Eine deutliche Markierung weisen auch die angetroffenen gefäßassoziierten Zellen auf. Die Differenzierung dieser Zellen erweist sich als äußerst schwierig, oft erscheinen die hier mit aufgeführten Zellen wie deformierte Monozyten, so daß angenommen werden darf, daß die Zahl der Monozyten noch geringfügig höher anzusetzen ist. Keinerlei Aktivität zeigen die nur spärlich anzutreffenden fibrozytären Zellen.

2) Stadium des frischen Granuloms

- in dieser Gruppe lassen sich die Fälle Nr. 4, Nr. 5, Nr. 7 und Nr. 9 zusammenfassen. Im histologischen Schnitt erkennt man jetzt reichlich Epitheloidzellen, die sich zu meist noch kleineren Komplexen verbunden haben. Kollagene Fasern sind nicht oder nur sehr spärlich anfärbbar.

  Im Histogramm dominieren zwei Zelltypen: Monozytoide (26,68 bis 37,81 %) und Epitheloidzellen (31,38 %, 41,51 %, 31,85 % bzw. 3o,7 %). Bei den Epitheloidzellen handelt es sich vorwiegend um solche vom peripheren Typ. Riesenzellen erscheinen nur äußerst selten (immer weit unter 1 %); Fibrozyten/-blasten sind bis maximal 3,9 % vertreten. Wechselnd beteiligt ist die Gruppe der Adventitialzellen, welches sich durch den Umstand erklärt, daß Gefäße in den untersuchten Gewebeabschnitten meist in der Peripherie vorkommen und somit in dem oft sehr kleinen Ausschnittsbild des Semidünnschnittes nicht enthalten sind. Die zelluläre Zusammensetzung der Fälle dieses Stadiums gibt Abb. 12 schematisch wieder.

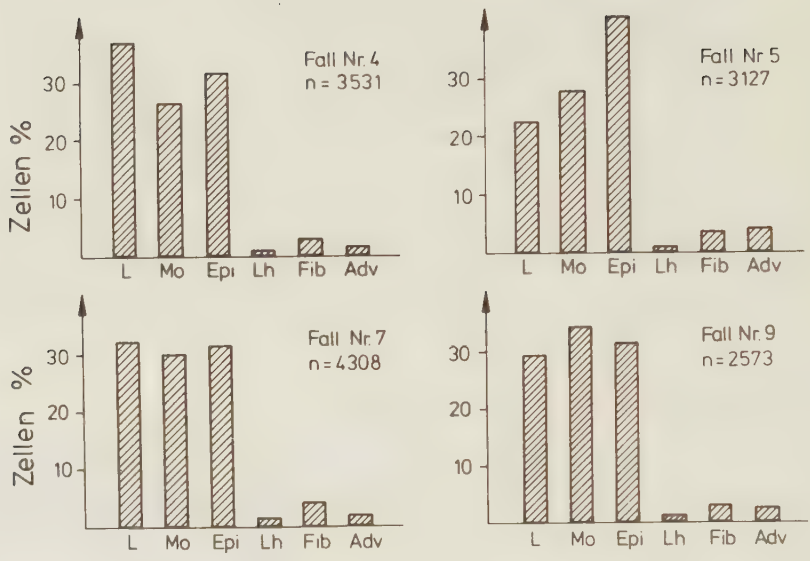



Abb. Nr. 12 : Zellprofile ( p%) der Fälle Nr. 4, Nr. 5, Nr. 7 und Nr. 9

In der Zuordnung des H-3-Markierungsprofils (Abb. 13) zeigen sich zum vorangegangenen Stadium ebenfalls merkliche Unterschiede. Die proliferative Aktivität der Monozytoiden ist im Vergleich etwas schwächer, aber mit H-3-Indices zwischen 9,36 % (Nr. 5) und 13,93 % (Nr. 9) immer noch sehr hoch. Die Markierungshäufigkeit der Epitheloidzellen ist zum davor dargestellten Fall in etwa gleichgeblieben (6,24 %, 5,7 %, Fälle Nr. 4 und 5) oder hat zugenommen (bei Fall Nr. 9 auf 12,16 %).

Fibroblasten weisen nur im Fall Nr. 7 einen Markierungsindex über 4 % (4,76 %) auf, die Werte liegen in den anderen Fällen um oder unter 3 %.

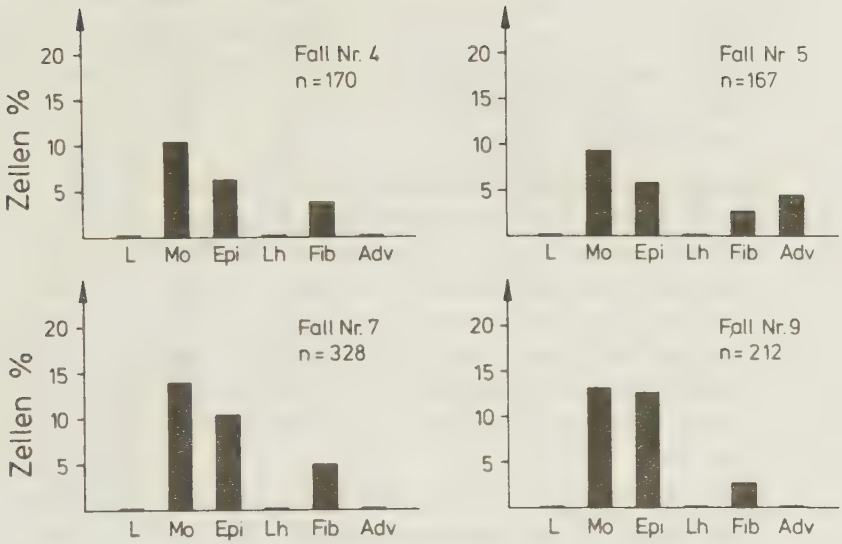



Abb Nr 13 H-3-Thymidin-Markierungsprofile der Falle Nr 4, Nr 5, Nr 7 und Nr 9

3) Stadium des fibrosierenden Granuloms

- lichtmikroskopisch zeigt sich eine sich offensichtlich von peripher nach zentral hin entwickelnde Fibrosezone; es finden sich Granulome, die völlig von einem hyalinen Kranz umgeben sind. In der Auswertung der Zellprofile der hier einzuordnenden Fälle Nr. 2, Nr. 1o und Nr. 11 (Abb. Nr. 14) zeigt sich eine deutliche Zunahme der Fibrozyten (21,99 %, 9,7 % bzw. 5,76 %), und deren Aktivität (H-3-Index) erreicht hier die höchsten Werte (9,59 %, 5,63 % und 9,76 %). (Abb. Nr. 15.)

Monozytoide Zellen sind noch reichlich vertreten und weisen hohe Markierungsindices auf (bis 17,39 % im Fall Nr. 1o und 14,15 % im Fall Nr. 2). Dies darf sicher als Ausdruck eines noch aktiven Geschehens beziehungsweise, im Falle der Mononukleären, eines noch erheblichen Zuflusses neuer Zellen zum Granulom gedeutet werden.

Da die Granulome durchschnittlich größer sind, ergibt sich in der zellulären Zusammensetzung auch ein höherer Anteil zentralliegender Epitheloidzellen. Wenn auch die Markierungshäufigkeit dieser zentralen Epitheloidzellen gering höher ist als in den anderen Fällen, so werden auch hier nicht die Werte der peripheren Epitheloidzellen beobachtet; beim Fall Nr. 11 zeigt beispielsweise der H-3-Index einen um 5 % höheren Wert.

Bei den Fällen Nr. 2 und Nr. 1o wurden zahlreiche Gefäße mit in den ausgewerteten Semidünnschnitten und Autoradiogrammen getroffen, so daß sich im Zellprofil Anteile von 14,34 % und 8,83% ergeben. In der Auswertung der H-3-Markierungen kann dann aber auch gezeigt werden, daß diese Zellgruppe eine äußerst proliferative Fraktion besitzt. Mit H-3-Indices von 11,11 % (Fall Nr. 2) und 4,36 %(Fall Nr. 1o) oder gar 9,68 % (Fall Nr. 11) stehen die gefäß- und gefäßwandassoziierten Zellen den anderen Zelltypen in der Stoffwechselaktivität jetzt keinesfalls nach.

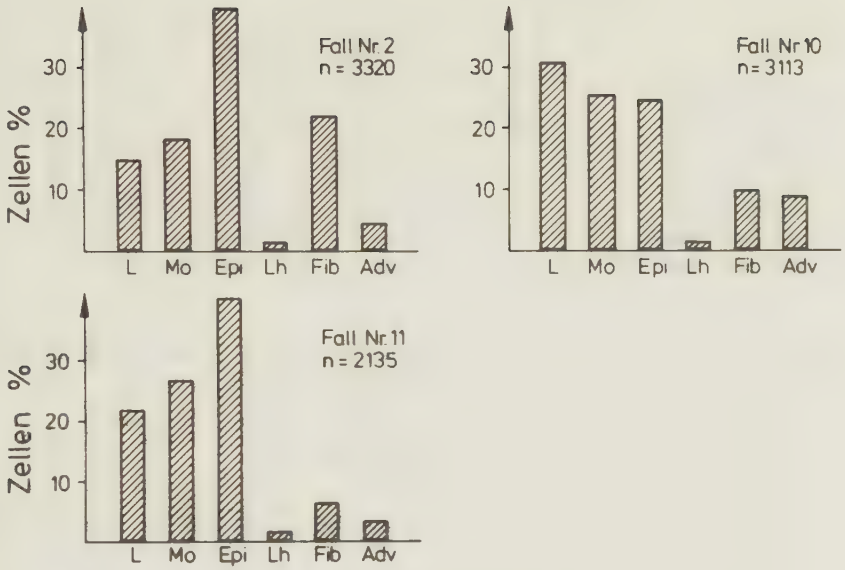



Abb Nr 14 : Zellprofile ( p % ) der Fälle Nr 2, Nr 10 und Nr 11

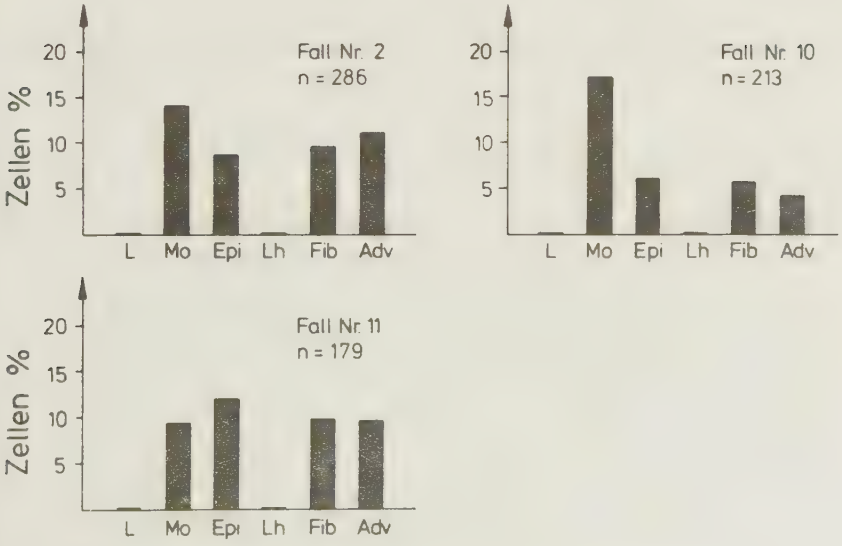



Abb Nr 15 : H-3-Thymidin-Markierungsprofile der Fälle Nr 2, Nr 10 und Nr 11

4) Stadium der fortgeschrittenen Fibrose

- große Teile des histologischen Schnittes werden jetzt eingenommen von einem homogen erscheinenden hyalinen Narbengewebe. Die Anzahl der auszählbaren Zellen hat sich auf fast die Hälfte vermindert; in der Auflistung der Zelltypen dominieren die fibrozytären Zellen. Im Fall Nr. 8, der wie die Fälle Nr. 1 und Nr. 3 unter dieses Stadium eingeordnet wurde, bilden Fibrozyten 38,1 % der Zellmasse, Monozytoide sind nur noch zu 8 % vertreten.

  Der Markierungsindex der mononukleären Zellen liegt mit Werten zwischen 1,85 % und 3,06 % so niedrig, daß es nicht berechtigt erscheint, bei dieser Zellgruppe noch von einem proliferierenden Zellkompartiment zu sprechen.

  Aber auch Fibrozyten und Epitheloidzellen erreichen mit Markierungsindices von knapp 3 % bzw. knapp über 3 % kaum eine Höhe, die über "steady state"-Verhältnissen liegt (Abb. Nr. 16 und Nr. 17).

  Im Fall Nr. 8 konnte sogar keinerlei Markierung einer Epitheloidzelle beobachtet werden; dieser Fall kann als Beispiel einer fast "ausgebrannten" Fibrose betrachtet werden, lediglich einige längliche Zellformen der Gefäßwände zeigen (noch) den Einbau des Prekursors (Abb. 26).

  Im Gegensatz zu Fall Nr. 8 sind in den Fällen Nr. 1 und Nr. 3 noch größere Granulome erkennbar. In der zellulären Zusammensetzung beanspruchen erstmals die Langhans'schen Riesenzellen größere Prozentanteile für sich, ohne jedoch jemals eine Markierung aufzuweisen.

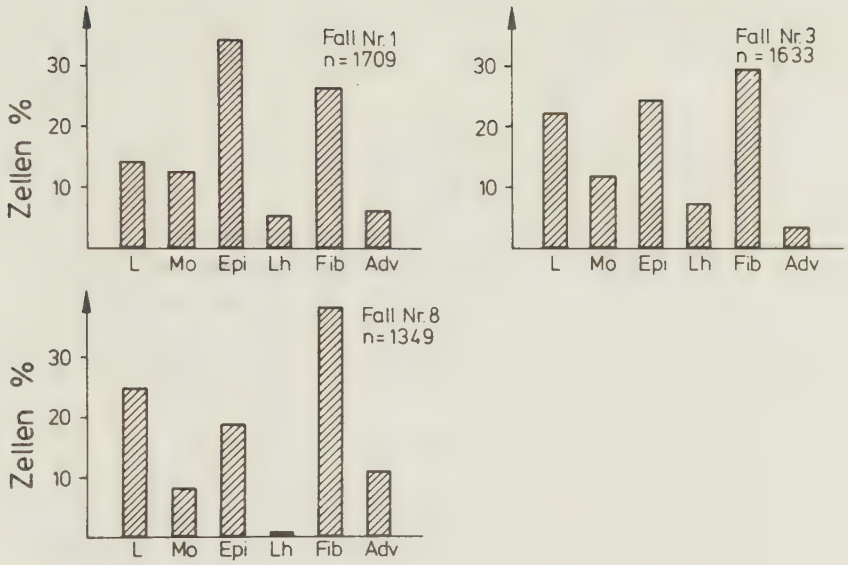



Abb. Nr. 16 : Zellprofile ( p % ) der Fälle Nr. 1, Nr. 3 und Nr. 8

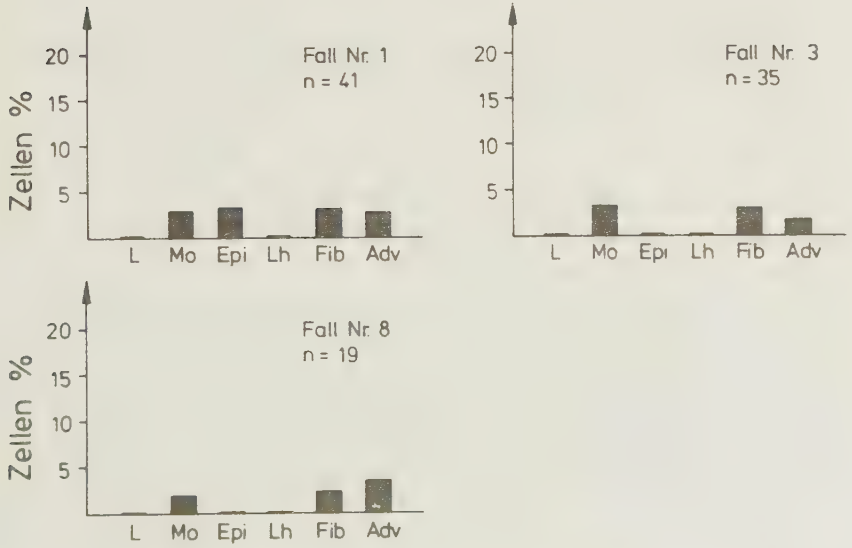



Abb. Nr. 17 : H-3-Thymidin-Markierungsprofile der Fälle Nr. 1, Nr. 3 und Nr. 8

# 5. Diskussion

## 5.1. Methodik

### 5.1.1. Histoautoradiographie

Lange Zeit waren die im Lichtmikroskop erfaßbaren Mitosefiguren einziges Kriterium zur Beurteilung der proliferativen Aktivität eines Gewebes. Bei einer Mitosedauer von nur etwa 3o - 9o Minuten ließen sich damit aber allenfalls Zellpopulationen mit einem sehr hohen Zellumsatz untersuchen (z.B. Oberflächenepithelien, Gonaden, schnellwachsendes Tumorgewebe).

Erst mit der Übernahme der Isotopentechnik in Histologie und Zytologie war es - in Verbindung mit einer autoradiographischen Technik - möglich geworden, proliferationskinetische Untersuchungen auch an Zellverbänden durchzuführen, deren Teilungsraten nicht das Ausmaß der obengenannten Gewebe erreichen bzw. Gewebe auch unter sog. "steady state"-Bedingungen zu untersuchen.

Unabdingbare Voraussetzungen zum Studium der zeitlichen Abläufe in einem Gewebe sind dabei die genaue Kennzeichnung stabiler Zellelemente, die Stoffwechsel nur in einem aktivierten Zustand aufweisen, und die Verwendung eines spezifischen, radioaktiv-markierten Vorläufers, welcher fast ausschließlich von jenem stabilen Zellelement verbraucht werden darf.

Beide Bedingungen werden durch den Einsatz des radioaktiv in seiner Methyl-H-3-Gruppe - markierten DNA-Nukleosids Thymidin in fast idealer Weise erfüllt. Mit H-3-Thymidin gelingt eine selektive Markierung ausschließlich der DNA, lichtoptisch ausschließlich des Zellkernes, der sich in der Synthesephase des

Zellzyklus befindet; ruhende Zellen, Zellkerne in der $G_1$, $G_2$ und M-Phase bleiben unmarkiert (SCHULTZE u. OEHLERT 1960, SCHULTZE 1968, AMLACHER 1974, HOELZER 1978).

Nach AMLACHER (AMLACHER 1974) kommt der Autoradiographie grundsätzlich ein qualitativer Charakter zu. Jede Markierung eines Zellkerns belegt so, daß bei der Verwendung von beispielsweise H-3-Thymidin als markiertem Vorläufer dieser Prekursor während der Untersuchungszeit in die DNA aufgenommen wurde. Die dann - so auch von uns - durchgeführte Bestimmung eines Markierungsindexes durch Auszählung des Verhältnisses von den markierten zu den unmarkierten Zellen hat somit auch qualitativen Charakter.

Als äußerst aufwendige Methode ist daneben aber auch eine quantitative Autoradiographie durch Relativmessung der Radioaktivität oder auch durch visuelle Zählverfahren (Einzel-Silberkornzählung) möglich. Für die von uns angegangenen Fragen ergab sich keine Notwendigkeit zur Anwendung der quanitativen Auswertung in dieser Weise, die neben hohen technischen Standardbedingungen auch eine genaue Kenntnis der DNA-Synthesezeit jeder einzelnen Zellpopulation voraussetzt.

### 5.1.2. In-vitro-Kurzinkubation

Beim Menschen können autoradiographische Untersuchungen der dargestellten Art im allgemeinen nicht in vivo durchgeführt werden. Es muß bei proliferationskinetischen Untersuchungen auf Zellkulturen (z.B. Blutzellen) oder auf in-vitro-Inkubationsverfahren ausgewichen werden.

Unter Einhaltung definierter Standardbedingungen bei Entnahme, Aufarbeitung und Inkubation des exzidierten Gewebes (Entnahmezeitpunkt und Inkubationsbeginn, Gewebegröße, Temperatur, $O_2$-Partialdruck, Inkubationsdauer, spezifische Radioaktivität, Auswertung der Explantatperipherie) ergeben sich für in-vitro- und für in-vivo-Verfahren annähernd gleiche Markierungsverhältnisse (RAJEWSKI 1966, HELPAP u. MAURER 1967 und 1969, KLEIN et al. 197o, KLEIN u. LENNARTZ 1972).

Gegenüber den Infusions- oder Injektionsverfahren des radioaktiven Vorläufers unterliegen in-vitro-Inkubationen selbstverständlich zahlreichen Einschränkungen. In der von uns angegangenen Fragestellung jedoch kommt der in-vitro-Anordnung ein wesentlicher Vorteil zu: durch eine zeitliche Limitierung der Inkubation auf etwa 15 - 2o Minuten vermögen nur diejenigen Zellen das H-3-Thymidin aufzunehmen, die sich während dieser Zeit in der DNA-Synthesephase befinden; da ein Zufluß neuer Zellen aus dem Gefäßsystem des von der allgemeinen Blutversorgung abgeschnittenen Explantats mit anschließender Emigration der Zellen nicht stattfindet, kann es sich bei den sich markierenden Zellen nur um bereits früher ausgewanderte, noch teilungsfähige Zellen oder um lokal proliferierende Zellpopulationen handeln.

Vom methodischen Ansatz her ergibt sich somit die Möglichkeit, auf die Zellherkunft einerseits oder, im Falle der emigrierten Blutzellen, auf deren weiteres Verhalten im Gewebe Rückschlüsse zu ziehen.

## 5.2. Granulome, retikulo-endotheliales (histiozytäres) System und Mononukleäres-Phagozytose-System

Unter einem Granulom verstehen wir umschriebene, knötchenförmig geordnete, kompakte Zellansammlungen von Makrophagen, Epitheloidzellen und Riesenzellen.

Zur granulomatösen Reaktion müssen darüber hinaus auch die diesen Zellen und dem eigentlichen Granulom in bestimmter Weise zugeordneten B- und T-Lymphozyten sowie die Fibrozyten gerechnet werden.

Granulome gelten aus Ausdruck und Resultat chronischer Entzündungsvorgänge, ungeachtet der sie auslösenden Reaktion. Die Deutung der bei der granulomatösen Reaktion auftretenden Phänomene stand und steht noch im Widerstreit verschiedenster, sich teils ausschließender Meinungen. Fragen nach der Funktion, der Ätiologie und dem Ablauf des granulomatösen Geschehens sind auf das Engste verknüpft mit Fragen zur Zyto- und Histogenese der granulombildenden Zellen.

In der Auseinandersetzung um die Herkunft der Granulomzellen lassen sich im wesentlichen zwei Haupttendenzen erkennen: Auf Darstellungen von ASCHOFF und KIYONO (ASCHOFF 1913 und 1924) gehen Vorstellungen eines lokal proliferierenden Prozesses, ausgehend vom retikulo-endothelialen (histiozytären)-System, zurück. Unter dem Begriff des retikulo-endothelialen (histiozytären)-Systems (RES, RHS) wurden von ASCHOFF verschiedenartigste, verstreut im Organismus vorkommende Zellen zusammengefaßt, denen aber ganz offensichtlich die gleichartige Funktion der Phagozytose zukommt. Zu diesen Zellen mesenchymaler Herkunft gehören u.a. Retikulum- und Sinusendothelzellen von Milz, Lymphknoten, Knochenmark, die von Kupffer'schen Sternzellen der Leber, im weiteren Sinne alle Endothelien und Uferzellen auch der Gefäße sowie die bereits im Bindegewebe vorhandenen "fixen" Gewebsmakrophagen (Histio-

zyten). Zellersatz und Zellerneuerung erfolgt im RES durch Teilung ortsständiger Vorstufen mit anschließender Zelldifferenzierung.

Dieses System einer retikulo-histiozytären Granulomableitung wurde in den vergangenen Jahren weitgehend verdrängt durch das Konzept der Rückführung aller phagozytären Zellelemente letztlich auf die (angenommene) Knochenmarksstammzelle (SPECTOR u. LYKKE 1966, ADAMS 1976, v. FURTH 197o, 1975, 198o).

In diesem als Mononukleäres-Phagozytose-System (MPS) bezeichneten, in sich vergleichsweise geschlossen erscheinenden Konzept werden originäre, zur Phagozytose befähigte Bindegewebszellen als granulombildende Vorläufer vollständig abgelehnt. Nach v. FURTH lassen sich die in den Geweben vorkommenden (mononukleären) Phagozyten sämtlich auf ihren unreifsten Vertreter im Knochenmark, den Monoblasten, zurückführen. Unter Normalbedingungen ("steady state") kommt nur dieser Zelle proliferative Potenz zu; durch Teilung des Monoblasten entstehen im Knochenmark als direkte Vorstufe des Monozyten Promozyten. Ausgereifte Monozyten verweilen nur kurz im Knochenmark, treten dann alsbald in die Blutbahn über, welche sie in den Geweben wieder verlassen, um als Makrophagen im Gewebe zu erscheinen. Hier treten sie im Bindegewebe als Histiozyten, in der Lunge als Alveolarmakrophagen, in der Leber als v. Kupffer'sche Sternzellen, in Lymphknoten und Milz als "freie" und "fixe" Makrophagen, in den serösen Häuten und den Körperhöhlen als Pleura- oder Peritonealmakrophagen, im Knochen als Osteoklasten oder im Nervensystem als Mikroglia auf.

Unter den Bedingungen eines akuten oder chronischen Entzündungsprozesses erfährt dieses System eine rasche Steigerung der Monozytenproduktion im Knochenmark, und über eine erhöhte Anzahl im Blut zirkulierender Monozyten treten vermehrt phagozytierende Makrophagen im entzündlichen Exsudat und Infiltrat auf.

Als weiterer Differenzierungsschritt treten bei der chronischen Entzündung im Gewebe Epitheloidzellen und Riesenzellen, angeordnet als Granulom, in Erscheinung. Beide stammen nach v. FURTH entweder in direkter Linie von den frisch eingewanderten Monozyten ab oder leiten sich indirekt von zuvor als Monozyten emigrierten, jetzt unter dem Entzündungsreiz aktivierten Makrophagen her. Riesenzellen (vom Fremdkörper- und vom Langhans-Typus) stellen in der Fortführung dann das Fusionsprodukt von Epitheloidzellen bzw. mononukleären Phagozyten oder Makrophagen dar.

Nicht zum System der monozytogenen Phagozyten gehören Fibrozyten, Mesothelien und Retikulumzellen. Diesen Zellpopulationen wird gleichfalls eine Erneuerung durch ortsständige Teilung zugesprochen.

Die Untersuchungen zur Abstammung der zellulären Elemente führen zu einer Reihe weiterer Fragen hinsichtlich der Funktion dieser Zellelemente und der Ursache ihrer Wandlung im Verlauf der Reaktion bis hin zur Frage, unter welchen Bedingungen oder unter welchem Einfluß sich Lymphozyten, mononukleäre Zellen, Makrophagen, Epitheloidzellen, Riesenzellen und Fibrozyten zu jener kompakten Zellansammlung, die wir Granulom nennen, formieren.

In der Erörterung ist sicherlich in manchen Abschnitten zwischen Granulomen mit bekanntem auslösendem Agens und solchen unbekannter Ätiologie zu unterscheiden. Dennoch ist anzunehmen, daß sich auf zellulärer Ebene vergleichbare Reaktionsmuster ereignen.

Nach ADAMS (ADAMS 1976) steht am Anfang des in die epitheloidzellige Granulomatose mündenden Geschehens stets eine akute entzündliche Reaktion, die, da das eingedrungene Agens keine Attraktivität für die neutrophilen Granulozyten besitzt, zu einer Stimulation und Aktivierung

mononukleärer Phagozyten bzw. Makrophagen führt. Die Reaktion tritt in das Stadium einer chronischen Entzündung ein. Den sich jetzt versammelnden Makrophagen kommen dabei aber nicht nur phagozytische Eigenschaften zu. Wie neuere Befunde belegen (WAARDE van et al. 1977, SLUITER 1980), vermögen aktivierte Makrophagen durch die Produktion von auch im Serum nachweisbaren Faktoren (MPI = monocytopoiesis inhibitor und FIM = factor increasing monocytopoiesis) nicht nur das Anwachsen der eigenen Zellpopulation durch Regulation des Zuflusses neuer Zellen zu modulieren, sondern, in enger Beziehung zu anderen Zellen (vornehmlich Lymphozyten), erweisen sich die Exsudatmakrophagen schon in der Frühphase der Immunantwort als potente Produzenten einer Reihe von Komplementfaktoren (BITTER-SUERMANN 1980). Da die Makrophagen selbst u.a. aber auch Rezeptoren für Komplementsubstanzen (z.B. für C3) entwickeln, bildet die Makrophagenversammlung ein auf weiten Strecken unabhängiges Funktionssystem in der Auseinandersetzung mit einer die entzündliche Reaktion auslösenden und unterhaltenden Substanz.

Trotz vielfältiger Untersuchungen läßt sich gegenwärtig nicht sicher entscheiden, unter welchen Bedingungen sich jener lockere Verband interagierender Makrophagen bzw. die einzelne mononukleäre Zelle in das epitheloidzellige Granulom bzw. die einzelne Epitheloidzelle verwandelt. ROULET (ROULET 1956) nahm an, daß die "epitheloidzellige Metamorphose" das Resultat einer Protoplasmaumwandlung nach Resorption und Einbau besonderer Stoffe, unter denen er gewisse Phospholipide verstand, darstellt. FUSE und Mitarbeiter (FUSE et al. 1980) meinen, daß sich Makrophagen nach der Phagozytose (alterierter) Lymphozyten in Epitheloidzellen umwandeln. Auf die enge Beziehung der Lymphozyten zum Prozeß dieser Transformation weisen auch AZAR und Mitarbeiter hin (AZAR et al. 1973).

DANNENBERG (DANNENBERG et al. 1975) konnte beim Tuberkulose-Granulom zeigen, daß der Übergang vom Makrophagen zur Epitheloidzelle mit dem Abbau zuvor phagozytierter Mykobakterien einhergeht.

Ultrastrukturelle Untersuchungen der Epitheloidzellen belegen hingegen mehr eine sekretorische denn eine gesteigerte Phagozytoseleistung der Epitheloidzellen. Nach JONES-WILLIAMS (JONES-WILLIAMS et al. 1971 und 1973) lassen sich ultrastrukturell zwei Formvarianten der Epitheloidzellen erkennen: neben einem mit reichlich rauhem endoplasmatischem Retikulum ausgestatteten, synthetisierenden Typ (A-Typ nach JONES-WILLIAMS) wird eine Variante mit reichlich hellen, zytoplasmatischen Vesikeln beschrieben (B-Typ nach JONES-WILLIAMS).

Andere Autoren (GUSEK 1968, PICKARTZ u. JAUTZKE 1980, CAIN 1981) sind der Ansicht, daß es sich bei diesen Formvarianten lediglich um unterschiedliche Reifestadien epitheloider Zellen handelt und nicht um grundsätzlich differente Zelltypen mit spezifischen Aufgaben.

Viele Fragen ergeben sich zur Funktion der Epitheloidzellen. Wenn die ihnen von ADAMS (ADAMS 1976) noch zugesprochene Fähigkeit der gesteigerten Phagozytose ihr Wesen nicht trifft, welche Funktion kommt den Epitheloidzellen im Granulom dann zu?

Zahlreiche Befunde weisen die epitheloide Zelle als immunkompetente Zelle aus, der, bei nur geringem Phagozytosestimulus, die Aufgabe zukommt, einerseits den entzündlichen Fokus durch Verzahnung mit den Nachbarzellen abzuriegeln, andererseits aber auch zum Entzündungsherd hin durch die Abgabe ihrer Sekretionsprodukte ein Milieu zu schaffen, welches gegenüber Erregern hemmende Wirkung entfaltet und gleichzeitig die Effektivität der Makrophagen erhöht (UNANUE 1976, EPSTEIN 1977, COTTIER et al. 1980). Epitheloidzellen tragen damit aber möglicherweise

auch zur Chronifizierung der Reaktion durch Persistenz der Erreger (beim infektiösen Granulom) oder durch Antigenpersistenz (beim allergisch-hypersensitiven Granulom) bei (EPSTEIN 1977, JONES-WILLIAMS 1977, UNANUE 198o, MARIANO 198o, MÜLLER-HERMELINK u. KAISERLING 198o).

Im Falle der Sarkoidose erhebt sich die Frage, ob dieser Prozeß auch nach dem Verschwinden des ursprünglichen Antigens fortbesteht. MÜLLER-HERMELINK und KAISERLING (MÜLLER-HERMELINK u. KAISERLING 198o) diskutieren darüber hinaus bei den kleinherdigen Epitheloidzellreaktionen im Lymphknoten als Stimulus sogar nur eine endogene Lymphokinineinwirkung. Umgekehrt treten demgegenüber beim durch "inerte", nicht antigen-wirksame Stoffe induzierten Fremdkörpergranulom Epitheloidzellen in entsprechend geringer Anzahl in Erscheinung.

## 5.3. Diskussion der eigenen Ergebnisse

Autoradiographische Untersuchungen zur Proliferationskinetik liegen zu unterschiedlichen mit Granulombildung einhergehenden Prozessen vor. WOLFART (WOLFART 1964) untersuchte den Stoffwechsel und das Proliferationsverhalten des tuberkulösen Granulationsgewebes beim Meerschweinchen; SPECTOR (SPECTOR u. LYKKE 1966) produzierte entzündliche Granulome durch Injektion von abgetöteten Tuberkulosebazillen in Freund'schem Adjuvans bei kleinen Nagetieren und studierte in Doppelmarkierungsversuchen mit H-3-Thymidin und kolloidalem Kohlenstoff den Verlauf der Granulombildung über einen Zeitraum von zwölf Wochen. Autoradiographische Histologie und Zytologie an Schnitt- und Tupfpräparaten vom Wattegranulom stellt BÜCHNER (BÜCHNER 1971) vor, und von H-3-Thymidinmarkierungsversuchen an experimentellen Zirkonium- und Berylliumgranulomen berichten BLACK und EPSTEIN (BLACK u. EPSTEIN 1974).

Auf die Resultate dieser Untersuchungen wird im folgenden in der Darstellung der eigenen Ergebnisse beim Sarkoidosegranulom eingegangen.

Schon bei der herkömmlichen lichtmikroskopischen Beurteilung der Präparate war erkennbar, daß zur Untersuchung der Proliferationskinetik des Sarkoidosegranuloms Gewebematerial vorlag, welches offensichtlich aus unterschiedlichen Stadien im schon dargestellten Ablauf der Sarkoidose stammte. So fanden sich Schnitte mit nur angedeuteter Granulombildung und in anderen Fällen Bilder eines fast völligen bindegewebigen Umbaues des untersuchten Lymphknotens.

Es erschien uns daher nicht gerechtfertigt, die untersuchten Fälle lediglich in einer summarischen Betrachtung abzuhandeln. In Anlehnung an MATSUI (MATSUI et al.

1976) entschieden wir uns für eine vierstufige Einteilung der histologischen Befunde. Im Einklang mit den Vorstellungen der allgemeinen Entzündungslehre unterschieden wir als Anfangsstadium ein Stadium der Exsudation, welchem das Stadium der frischen Granulombildung folgt. Diesem Granulomstadium zeitlich nachgeordnet wurde das Bild der beginnenden hyalin-bindegewebigen Umwandlung, welches wiederum ausmündet in die fortgeschrittene Fibrosierung als letztes Zustandsbild.

Bei der Einordnung der untersuchten Fälle in dieses Schema stellten sich für jede Kategorie bezeichnende Profile der zellulären Zusammensetzung dar.

Im Stadium der Exsudation bestimmen die Lymphozyten als einheimische Zellpopulation das Zellbild; es finden sich nur wenige Epitheloidzellen; mononukleäre Zellen (Histiozyten, Makrophagen) jedoch kommen schon in größerer Häufigkeit vor; als Fibrozyten erkennbare Zellen werden kaum beobachtet. Im Gesamteindruck besteht ein lockerer Makrophagenverband mit nur sehr wenigen, nicht organisierten Epitheloidzellen in einem lymphatischen Gewebe.

Im Stadium des frischen Granuloms treten dann zu je etwa einem Drittel Lymphozyten, monozytoide Zellen und Epitheloidzellen, letztere meist zu nicht sehr großen Komplexen verbunden, auf. Fibrozyten machen kaum mehr als 3 % der Zellmasse aus, Riesenzellen werden zu weniger als 1 % ausgezählt.

Die zelluläre Zusammensetzung in diesem Stadium entspricht dem von SOLER und Mitarbeitern (SOLER et al. 1976) durch ultrastrukturelle Untersuchung eines Sarkoidosegranuloms erarbeiteten Histogramm.

Im dritten von uns unterschiedenen Stadium des fibrosierenden Granuloms wird der Gesamteindruck bestimmt von der zunehmenden, vom Randbereich der erhaltenen

Granulome sich nach außen und zentral ausdehnenden Abscheidung eines hyalinen Fasermaterials. Im Zellbild fällt der Anteil der Monozytoiden ab, gleichzeitig nimmt der Anteil der Fibrozyten zu. Die Epitheloidzellen, die etwa 4o % der Zellmasse ausmachen, liegen in Form größerer, kompakter Verbände (Granulome) vor.

Unter der letzten Kategorie, dem Stadium der fortgeschrittenen Fibrose, wurden die Fälle zusammengefaßt, in denen das morphologische Bild beherrscht wird von der homogenen hyalinen Narbenbildung. Fibrozyten bilden die dominierende Zellpopulation, der Anteil der Epitheloidzellen nähert sich 2o %, die mononukleären Rundzellen sind nur noch mit etwa 1o % oder darunter vertreten. Häufiger konnten wir jetzt in diesem späten Stadium noch Langhans'sche Riesenzellen beobachten.

Von SPECTOR (SPECTOR 1974, 1976, 198o) wurde eine Trennung der Granulome in solche mit hohem Zellumsatz ("high-turnover") und solche mit geringem Umsatz der beteiligten Zellen ("low-turnover") eingeführt.

"Low-turnover"-Granulome werden danach durch inerte Substanzen (wie zum Beispiel Kohlenstoff) erzeugt; es wird nur eine geringgradige Proliferation von Phagozyten, welche die Substanz aufnehmen, beobachtet, und die vorhandenen Makrophagen verweilen sehr lange im Granulom. Besitzt jedoch die irritierende Substanz toxischen Charakter (wie z.B. Kieselsäure, Paraffinöl oder nahezu alle infektiösen Agentien), so resultiert ein Granulom, welches gekennzeichnet wird durch den schnellen Umsatz kurzlebiger Granulomzellen. Der Übergang eines "High-turnover"-Granuloms zu einem "Low-turnover"-Granulom geht einher mit der Beseitigung der eingedrungenen Substanz bzw. mit dem Erlöschen der toxischen oder antigenen Wirkung dieses Stoffes.

Betrachtet man das von uns untersuchte Sarkoidosegranulom unter diesem Gesichtspunkt, so läßt sich feststellen, daß dieses vom Auftreten der Reaktion bis zum Stadium des fibrosierenden Granuloms ebenfalls zur Klasse der "High-turnover"-Granulome gerechnet werden muß. Lediglich im Zustand der fortgeschrittenen Fibrose bewegen sich die Markierungsindices für die Epitheloidzellen und die mononukleären Zellen um oder unter 3 % und zeigen damit eine nur geringe Aktivität des Granuloms an.

Über die generelle Feststellung der Zugehörigkeit des Sarkoidosegranuloms zu den Granulomen mit hohem Zellumsatz hinaus ergeben die H-3-Thymidin-Markierungen aber für die untersuchten Zellpopulationen recht charakteristische Muster ihres Verhaltens bei der Entwicklung und Wandlung des Granuloms.

In bereits dargestellter Weise haben wir beim Sarkoidosegranulom als beteiligte Zellarten Lymphozyten, monozytoide (mononukleäre) Zellen (Histiozyten, Makrophagen), Epitheloidzellen, Riesenzellen, Fibrozyten und eine Reihe nicht einheitlicher, stets aber im Zusammenhang mit Gefäßen vorkommender Zellen unterschieden.

Wegen ihrer besonderen Bedeutung sollen die mononukleären Zellen an den Anfang der Erörterung gestellt werden.

### Monozytoide(-nukleäre) Zellen

Ein lichtmikroskopisch kennzeichnendes Merkmal der in dieser Gruppe zusammengefaßten Zellen ist die große Variabilität, mit der mononukleäre Zellen im Gewebe auftreten. Eine an sich wünschenswerte Differenzierung dieser histochemisch, ultrastrukturell und auch funktionell in mancher Hinsicht nachgewiesenermaßen uneinheitlichen Zellpopulation ist mit den Methoden der Lichtmikroskopie äußerst umstritten, so daß wir auf eine bestimmende Zuordnung der

markierten mononukleären Zellen zu den übrigens in der Literatur ebenfalls oft synonym gebrauchten Begriffen Monozyt, Histiozyt oder Makrophage bei der Auswertung verzichteten.

Monozytoide Zellen stellen nach unseren Untersuchungen die eindeutig proliferativste Zellgruppe beim Sarkoidosegranulom dar. Im frühesten Reaktionsstadium erreichen sie einen Markierungsindex von über 18 %; die Aktivität bleibt aber auch in den folgenden Stadien bis einschließlich der beginnenden bindegewebigen Umwandlung des Granuloms hoch (9 - 17 %), was auch in diesen Stadien sicherlich als Ausdruck einer noch lebhaften Auseinandersetzung im Gewebe gedeutet werden darf. Sehr rasch jedoch sinkt die Anzahl aktivierter monozytoider Zellen im letzten Stadium des fortschreitend vernarbenden und vernarbten Granuloms.

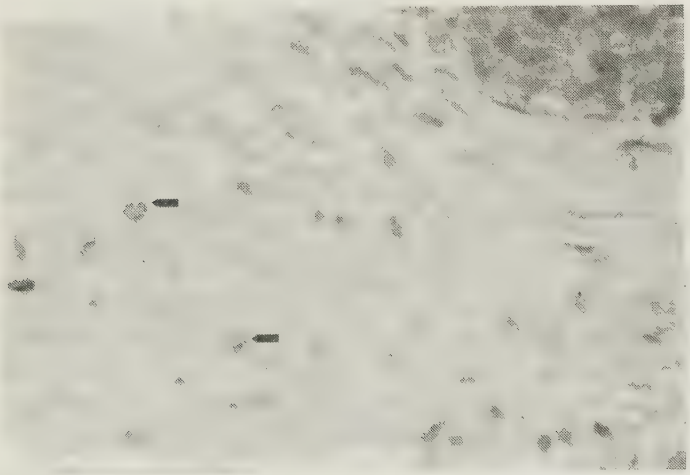


Abb. 18 Randbereich eines Sarkoidosegranuloms mit breiter Fibrosezone, zahlreiche Fibrozyten, mehrere markierte mononukleäre Rundzellen (Pfeile); Fall Nr. 2
Färbung: Methylenblau; Objektiv 4o,o Agfachrome 5o S, Vergr. 4oo-fach

Der hohe Markierungsindex weist die Gruppe der mononukleären Zellen als eine schnell regenerierende Zellpopulation aus.

Da durch die bereits genannten Inkubationsbedingungen eine Einwanderung frischer Zellen über das Gefäßsystem in das untersuchte Gewebe weitgehend auszuschließen ist, darf angenommen werden, daß es sich bei allen angetroffenen markierten Zellen um proliferierende, d.h. zur DNA-Synthese befähigte, aber bei Inkubationsbeginn bereits im Gewebe vorhandene Zellen handelt.

Der Befund läßt zwei Deutungen zu: entweder handelt es sich um ständig und originär im untersuchten Gewebe vorhandene, jetzt im Rahmen des entzündlichen Prozesses proliferierende Zellpopulationen, oder es handelt sich um nicht ausdifferenzierte, weiter teilungsfähige Zellen, die schon vor Inkubationsbeginn aus dem Gefäßsystem ausgewandert sind und erst im Exsudat ihre weitere Differenzierung erfahren bzw. durch weitere Zellteilungen dann zu einem großen Anteil das entzündliche Infiltrat bilden.

Die erste Deutung ließe sich mit einer Ableitung der markierten mononukleären Zellen von Zellen des retikulo-endothelialen Systems ohne besondere Schwierigkeiten in Einklang bringen.

Andererseits sahen wir aber auch bei der Auswertung unserer Präparate des öfteren markierte Zellen, die sich im Gefäßlumen befanden oder ganz offensichtlich sich als gerade das Lumen verlassende und in die Gefäßwand eindringende oder die Gefäßwand durchdringende Zellen darstellten. Diese Zellen waren unzweifelhaft als Monozytoide zu identifizieren (Abb. 19, 2o). Verbleibt man im Konzept des Mononukleären-Phagozytose-Systems (MPS), dann dürfen die in dieser Weise beobachteten Zellen, wie auch die markierten Monozytoiden des unmittelbaren Gra-

nulomumfeldes, aber keinesfalls als "reife" Monozyten, denen ja der Status einer Endzelle (keine weitere Teilung) zukommt (LEDER 1967, v. FURTH 1980), angesprochen werden; es kann sich allenfalls um unreifere Vorstufen der Monozytopoese handeln, die unter den Bedingungen eines entzündlichen Reizes vermehrt aus dem Knochenmark in die Blutbahn und schließlich ins Gewebe übertreten. Neben der Einordnung der markierten mononukleären Zellen als Monozytenvorläufer wird von Vertretern des MPS auch eine proliferative Potenz der (ebenfalls monozytogenen) Makrophagen für denkbar gehalten (SPECTOR u. LYKKE 1966). Bisher durchgeführte Untersuchungen ohne entzünd-

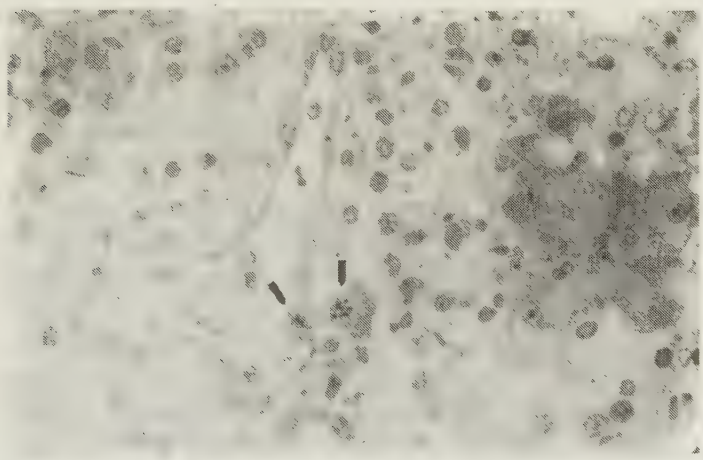


Abb. 19 Frisches epitheloidzelliges Granulom in unmittelbarer Nachbarschaft zu einem Gefäß; zwei monozytoide/histiozytäre Zellen mit H-3-Markierung, die offensichtlich gerade das Blutgefäß verlassen haben. Kaum Fibrosierung der Granulomperipherie. Fall Nr. 5. Methylenblaufärbung und Gegenfärbung mit bas. Fuchsin; Vergr. 500-fach

lichen Reizzustand ("steady state") erbrachten jedoch für Peritonealmakrophagen lediglich einen Markierungsindex von 1,5 % (nach sechsstündiger Inkubation) und schließen somit eine lokale Proliferation praktisch aus (v. FURTH et al. 1980). Von v. FURTH, der unter den Bedingungen einer akuten und chronischen Entzündung zwischen bereits vor dem entzündlichen Reiz im Gewebe vorhandene (aber gleichfalls monozytogenen) Makrophagen ("resisdent macrophages") und frisch zuwandernden Makrophagen ("exsudate macrophages") unterscheidet, wird eine gesteigerte Teilungsrate der bereits im Gewebe ansässigen Makrophagen, beispielsweise unter Lymphokinin-Stimulation bei einer Immunreaktion vom verzögerten Typ, als unsicher bezeichnet (v. FURTH 1978 und 1980).

Zusammenfassend ergeben unsere Befunde zur Herkunft der mononukleären Zellen des Sarkoidosegranuloms kein letztlich völlig schlüssiges Resultat.

Aufgrund der Beobachtungen kann einerseits sicher ein Zufluß von monozytoiden, aber weiter teilungsfähigen Zellen angenommen werden; der Anteil der proliferierenden Zellen erreicht aber eine derart überraschende Höhe, daß es nicht ratsam erscheint, die auf ASCHOFF zurückgehenden Vorstellungen eines proliferierenden retikulo-endothelialen Systems als Quelle der Granulomzellen vollständig zugunsten des Mononukleären-Phagozytose-Systems zu verlassen.

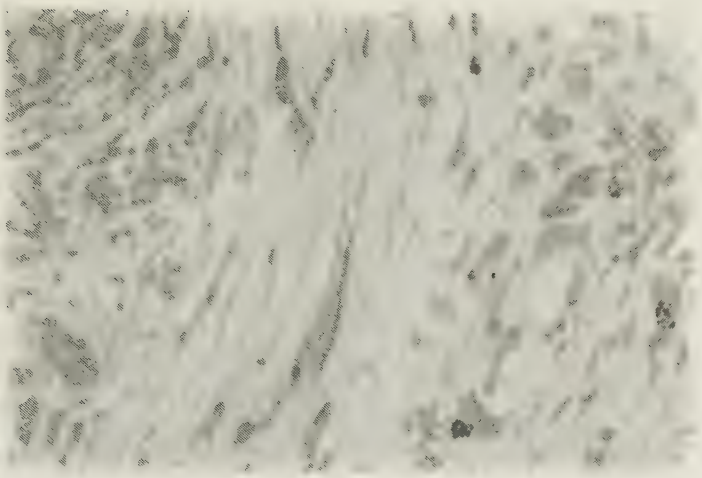


Abb. 2o Randbereich eines Sarkoidosegranuloms mit erheblicher Fibrosezone; zahlreiche fibrozytäre Zellen; im Querschnitt ein Blutgefäß und mehrere markierte histiozytäre Zellen; Fall Nr. 2
Doppelfärbung Methylenblau/bas. Fuchsin,
Vergr. 5oo-fach

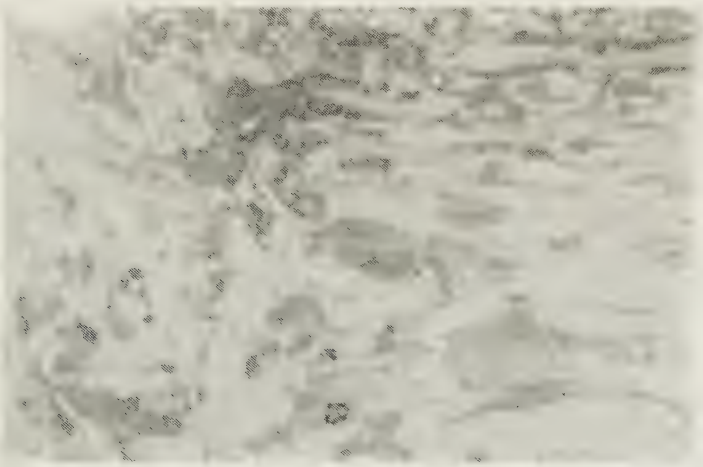


Abb. 21 Umgebung eines Granuloms mit einzelnen Fettzellen; dazwischen markierte Makrophagen, zahlreiche Fibrozyten zwischen einem homogenen Fasermaterial; Fall Nr. 11
Tech. Angaben wie Abb. 2o

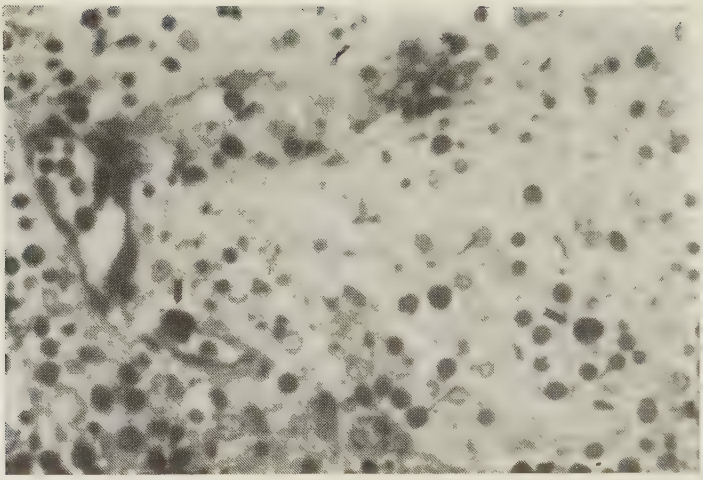


Abb. 22 Ausschnitt aus einem Lymphknotenareal in Nachbarschaft zu einem Granulom: reichlich Lymphozyten, daneben dichtmarkierter Monozytoider, eine weitere markierte Zelle in der Gefäßwand; Fall Nr. 6
Methylenblaufärbung; Vergr.: 5oo-fach

Epitheloidzellen

Die Epitheloidzellen des Sarkoidosegranuloms erreichen ihren proliferativen Höhepunkt zu einem Zeitpunkt, in dem sich auch das Gesamtgranulom in seiner vollsten, "saftigsten" Form darstellt.

Im Stadium des ausgebildeten epitheloidzelligen Granuloms beobachteten wir Markierungsindices von 1o bis über 12 %; es fiel auf, daß sich die im kompakten Granulom eher peripher gelegenen Epitheloidzellen deutlich häufiger markierten als die im Granulomzentrum sich befindenden Vertreter dieser Zellart. Unter der Annahme, daß sich Epitheloidzellen im Verlauf der granulomatösen

Reaktion von der Peripherie zum Granulomzentrum bewegen, das Granulom also von außen durch Zufluß und Anlagerung neuer Zellen an Größe gewinnt, während ältere Zellen ins Granulomzentrum abgedrängt werden, kann dieser Befund als Ausdruck einer sich verlierenden Aktivität älterer Epitheloidzellen gedeutet werden.

Wie schon bei den mononukleären Zellen beobachtet, fällt der Markierungsindex der Epitheloidzellen im letzten von uns unterschiedenen Stadium auf sehr niedrige Werte (maximal 3,48 %); in einem Fall (Nr. 8) war schließlich keine markierte Zelle mehr erkennbar.

Bisher sind wir stets mit Selbstverständlichkeit davon ausgegangen, daß jeder beobachteten Markierung eines Zellkernes auch eine Teilung dieser Zelle nachfolgen muß. Spätestens bei der Erörterung der sich markierenden Epitheloidzellen bedarf diese Vorstellung eines kritischen Einwandes, denn Teilungsvorgänge (Mitosefiguren) konnten bei dieser Zellform - im Gegensatz zu den Makrophagen - noch niemals mikroskopisch dokumentiert werden. Außerdem erhebt sich die Frage, zu welchem Zwecke und unter welchem Einfluß sich diese, wie bereits dargestellt, hochdifferenzierten Zellformen einer weiteren Zellteilung unterwerfen sollten. Möglicherweise folgt der unzweifelhaft festgestellten DNS-Synthese der Epitheloidzellen keine komplette Zellteilung und die beobachtete DNS-Synthese mündet in einer Polyploidisierung. Tatsächlich lassen sich durch zytophotometrische Untersuchungen vermehrt tetraploide bzw. hyperdiploide Epitheloidzellen nachweisen (QUEISSER et al. 1968). In einem gewissen Gegensatz zu dieser Möglichkeit stehen die Befunde, die WOLFART (WOLFART 1964) an Epitheloidzellen des tuberkulösen Granuloms erheben konnte. Durch vergleichende Silberkornzählung markierter Zellen konnte belegt werden, daß Epitheloidzellen in keiner Weise postmitotische Zellen im Sinne einer

Endphase der Zelldifferenzierung darstellen, sondern vielmehr in der Lage sind, sich sogar in erheblichem Ausmaß weiter zu teilen. Über regelrechte Zellteilungen epitheloider Zellen berichtet auch SPECTOR (PAPADIMITRIOU u. SPECTOR 1971, SPECTOR 1977). Er gibt für Epitheloidzellen in Kultur einen H-3-Markierungsindex von etwa 5,4 % bei 15-minütiger Inkubationsdauer an; der Wert liegt damit etwas unterhalb des von uns bestimmten Indexes beim Sarkoidosegranulom.

Unter einem zytogenetischen Aspekt ist das nahezu gleichartige Markierungsverhalten von Epitheloidzellen und Mononukleären im Verlauf des sich wandelnden Granuloms bemerkenswert. Die Vermutung liegt nahe, daß zwischen beiden Zellarten weitergehende Beziehungen (funktionell und zellgenetisch) bestehen.

Der relativ hohe Markierungsindex der Epitheloidzellen, der ja auch für einen raschen Zellumsatz dieser Gruppe spricht, lenkt die Aufmerksamtkeit auf das weitere Schicksal dieser Zellen. Es ergibt sich eine Reihe bisher ungeklärter Fragen: Gehen Epitheloidzellen im Granulomzentrum zugrunde? Wandern sie rasch wieder aus dem Granulom ab oder erfüllt sich ihr Schicksal in der Konfluenz zu mehrkernigen Riesenzellen?

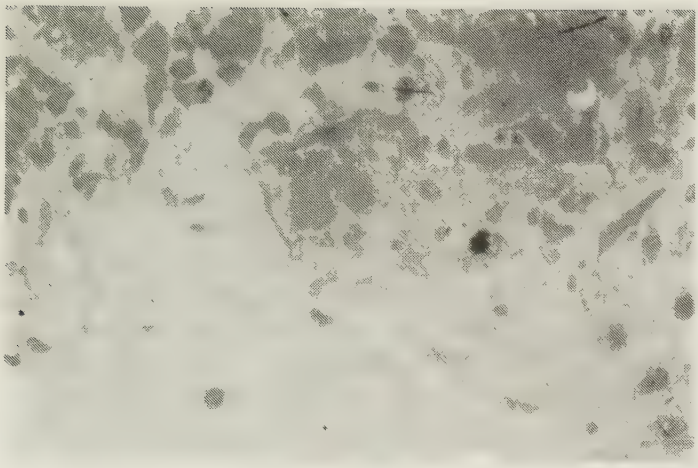


Abb. 23 Mehrere epitheloidzellige Granulome; beginnende hyaline Transformation; deutlich erkennbar mehrere markierte Epitheloidzellen der äußeren Granulomabschnitte ; Fall Nr. 1o
Tech. Angaben wie Abb. 19

Riesenzellen

Mehrkernige Riesenzellen kommen beim Sarkoidosegranulom vorwiegend in den späteren Stadien der Granulomentwicklung vor. Den höchsten Anteil beobachteten wir bei den Fällen Nr. 1 und Nr. 3; hier bilden sie 5,44 % bzw. 7,17 % der Granulomzellen. Ansonsten wird kaum ein Anteil von einem Prozent erreicht, welches zu der Aussage berechtigt, daß mehrkernige Riesenzellen beim Sarkoidosegranulom selten sind.

Wie WOLFART (WOLFART 1964) beim tuberkulösen Granulom und BÜCHER (BÜCHER 1971) beim Wattegranulom konnten auch wir beim Sarkoidosegranulom in keinem Falle Markierungen eines Riesenzellkernes beobachten. Hinsichtlich der Histogenese dieser Zellen läßt dies auch für

das Sarkoidosegranulom die Schlußfolgerung zu, daß mehrkernige Riesenzellen nicht das Produkt einer endomitotischen Teilung sein können.

Wenn Markierungen von Riesenzellkernen beschrieben wurden (BLACK u. EPSTEIN 1974), so lagen immer lange Versuchszeiten (bis mehrere Wochen) nach Verabreichung des radioaktiven Vorläufers diesen Beobachtungen zugrunde. Fehlende Markierungen bei der Kurzzeitinkubation und zunehmendes Auftreten markierter Kerne beim Langzeitversuch stützen aber die Annahme, daß mehrkernige Riesenzellen eher durch Fusion mehrerer Einzelzellen als durch Teilungsstörungen einer einzelnen Zelle entstehen. Auf eine weitere mögliche Variante der Riesenzellbildung weist SPECTOR (SPECTOR 1976) hin, wenn er diskutiert, daß die mehrkernige Riesenzelle auch das Resultat einer gegenseitigen Phagozytose mononukleärer Makrophagen sein könnte, Auf die Makrophagen als Vorläuferzellen der Riesenzellen weisen neben dem allgemeinen funktionellen Aspekt auch viele histochemische Gemeinsamkeiten hin (MÜLLER-HERMELINK u. KAISERLING 1980). Für die Sarkoidose von besonderem Interesse erscheint auch eine Spekulation von BLACK und EPSTEIN (1974), die meinten, daß je nach der Fusion verschiedener epitheloider Zellen auch differente Riesenzellen entstehen können. Auf die Tatsache, daß den Riesenzellen nicht nur phagozytische Eigenschaften, sondern auch sekretorische zukommt, hat erst kürzlich KRAUS (KRAUS 1980) hingewiesen.

### Fibrozyten und Adventitialzellen

Im überwiegenden Teil der Untersuchungen zur Entwicklung des epitheloidzelligen Granuloms wird auf die späten Stadien des Granuloms nicht eingegangen. Gerade die hyalin-narbige Umwandlung bildet jedoch die charakteristische Eigenheit des Sarkoidosegranuloms. Speziell bei der Sarkoidose wirft GUSEK die Frage auf, ob die er-

kennbare bindegewebige Transformation des Granuloms lediglich reaktiver Natur oder als Ausdruck einer aktiven Leistung der Granulomzellen aufzufassen sei (GUSEK 1968). Aufgrund ultrastruktureller Untersuchungen ergeben sich gewisse Anhaltspunkte, daß die in den Spätstadien der Sarkoidose zu differenzierenden ergastoplasmareichen Epitheloidzellen zur Produktion eines feinfibrillären Materials befähigt sind, welches dann in größeren Mengen in den Interzellularraum ausgeschleust wird; Struktur und ein partiell ähnliches färberisches Verhalten dieser Substanzen veranlaßten GUSEK, dieses ausgeschleuste Fibrillenmaterial in Beziehung zu Amyloid- bzw. Paramyloidsubstanzen zu setzen. Gleichzeitig wird aber auch eingeräumt, daß dieses Material vom Umfang her wohl nicht ausreicht, um die schließlich exzessive Hyalinisierung des Sarkoidosegranuloms zu erklären.

An den Beginn der hyalinen Transformation des Sarkoidosegranuloms setzten MORGENROTH und FASSKE (MORGENROTH u. FASSKE 1974) die Abscheidung von antigenwirksamen Eiweißsubstanzen an der Granulomoberfläche als Sekretionsprodukt der Epitheloidzellen. Bevorzugt im Bereich kleiner Gefäße konnten weiter lamellenartig angeordnete Strukturellen dargestellt werden, die - in Übereinstimmung mit immunhistochemischen Befunden (WANSTRUP u. ELLING 1968) - als Immunpräzipitatablagerungen gedeutet wurden. Erst in einem zweiten Schritt erfolgt demnach die lichtmikroskopisch das Bild bestimmende Produktion von kollagenen Fasern durch fibrozytäre Zellen.

Unter welchem stimulierenden Einfluß Fibroblasten bei fast allen granulomatösen Entzündungsformen bis in die vollständige Vernarbung hinein kollagene Fasern produzieren, ist nur wenig bekannt. Noch unsicher ist, ob sogenannte "Nekrohormone" aus zugrunde gegangenem Gewebe (z.B. auch beim Makrophagen- und Epitheloidzellabbau freiwerdende lysosomale Enzyme) eine aktivierende Wirkung auf die zur Faserbildung befähigten Zellen ausüben. Ungewiß bleibt bisher auch,

welche Bedeutung jenen möglicherweise von Makrophagen oder Epitheloidzellen produzierten oder mit dem Auftreten dieser Zellen assoziierten Mediatorstoffen und Mitogenen (MFSA - macrophage dependent fibroblast-stimulating activity) in der Stimulation der Fibrozyten zukommt (LEIBOVICH u. ROSS 1976).

Eine Umwandlung von Makrophagen und Epitheloidzellen des Granuloms in Fibroblasten diskutieren schließlich AZAR und MCDOUGAL (AZAR et al. 1973), die durch autoradiographische Analyse am Talkumgranulom die Aufnahme und Wiederausschleusung von markiertem Prolin als Kollagenvorläufer durch Epitheloidzellen demonstrierten.

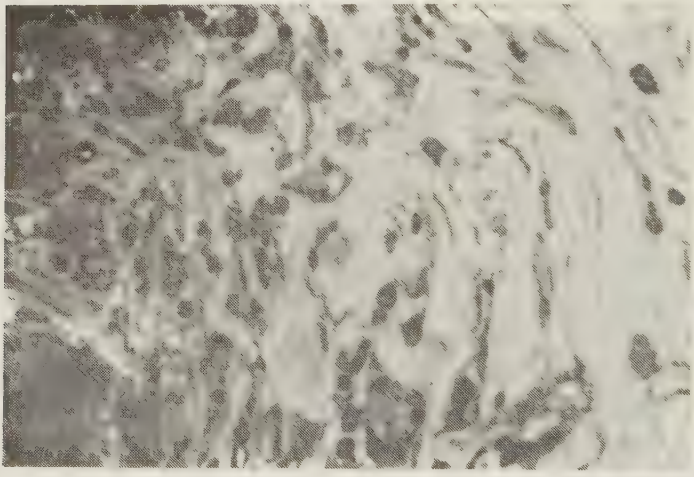


Abb. 24 Ausschnitt aus der Fibrosezone eines Sarkoidosegranuloms; markierte Fibroblasten; Fall Nr. 11
Tech. Angaben wie Abb. 2o; Vergr. 5oo-fach

Durch unsere eigenen Untersuchungen am Sarkoidosegranulom kann die Annahme einer Wandlung von Makrophagen und Epitheloidzellen in Fibroblasten nicht gestützt werden. So vollzieht sich der Anstieg markierter Fibrozyten zu einem Zeitpunkt, in dem Makrophagen und Epitheloidzellen eine deutlich nachlassende proliferative Aktivität erkennen lassen. Markierte Fibroblasten beobachteten wir außerdem nur in oft erheblicher "hyaliner" Distanz zum strukturierten epitheloidzelligen und gelegentlich riesenzellhaltigen Granulom (Abb. 24 und 25). Demgegenüber scheint uns eher eine Beziehung der fibrozytären Zellen zu den sogenannten Adventitialzellen wahrscheinlich. Es fällt auf, daß in beiden Zellgruppen - besonders markant in den Fällen Nr. 2 und Nr. 11 - ein fast synchroner Anstieg der proliferativen Aktivität erfolgt. Auch die Morphologie der in diesen Fällen beobachteten, markierten gefäßassoziierten Zellen mit den Fibroblasten weist deutliche Gemeinsamkeiten auf, so daß eine Ableitung der Fibrozyten von jener, auch Perizyten genannten Zellpopulation in gewissem Grade wahrscheinlich gemacht werden kann. Es läßt sich allerdings einwenden, daß auch in den frühen Stadien der Granulomentwicklung bereits eine erkennbare Proliferation der gefäßwandassoziierten Zellen zu konstatieren war, ohne daß die Fibrozyten ein entsprechendes Verhalten gezeigt hätten. Dies erklärt sich sicherlich mit der Heterogenität und der morphologisch nicht exakten Bestimmbarkeit der in dieser Gruppe zusammengefaßten Zellen. So darf einerseits angenommen werden, daß gelegentlich - besonders in den Frühstadien - DNS-synthetisierende Endothelien als Ausdruck einer stattfindenden Kapillarsprossung erfaßt wurden; außerdem kann nicht ausgeschlossen werden, daß auch gerade die Gefäßwand penetrierende Blutzellen (Mono-

zytoide) in die Zählung aufgenommen wurden, da diese Zellen bei der Durchwanderung der Gefäßwand eine erhebliche Formveränderung erfahren können.

In Anbetracht dieser Unsicherheiten muß - mit Ausnahme der Fibrozyten - auch auf eine weitergehende Schlußfolgerung, etwa über die Entstehung der mononukleären Makrophagen und Epitheloidzellen aus Zellen der Gefäßwand im Sinne und in der Nachfolge MARCHANDS (MARCHAND 1898), der eine solche Entwicklung annahm, verzichtet werden.

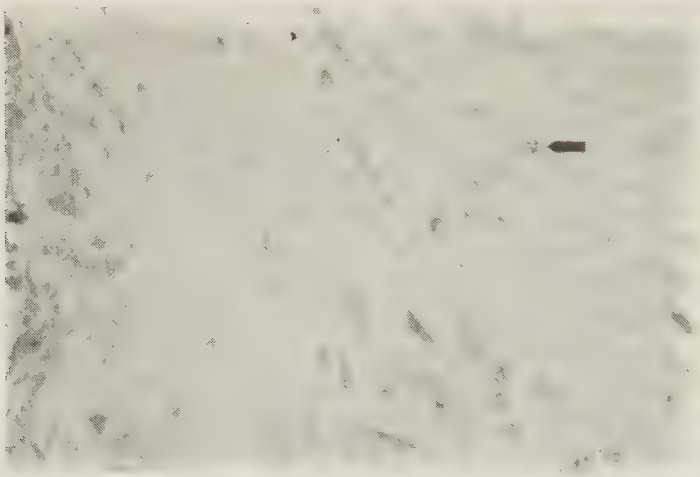


Abb. 25 Breite Fibrosezone zwischen zwei epitheloidzelligen Granulomen; H-3-markierter Fibroblast (Pfeil); Fall Nr. 2
Techn. Angaben wie Abb. 18

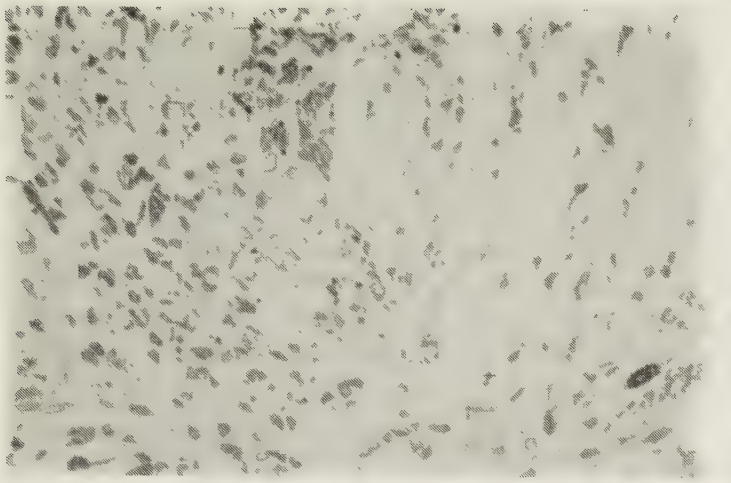


Abb. 26 Fortgeschrittene Fibrose eines Lymphknotens; reichlich homogenes Narbengewebe, dazwischen Fibrozyten, eine dicht markierte Gefäßwandzelle; Fall Nr. 8
Methylenblaufärbung, Objektiv 25,o; Agfachrome 5o S; Vergr. 25o-fach

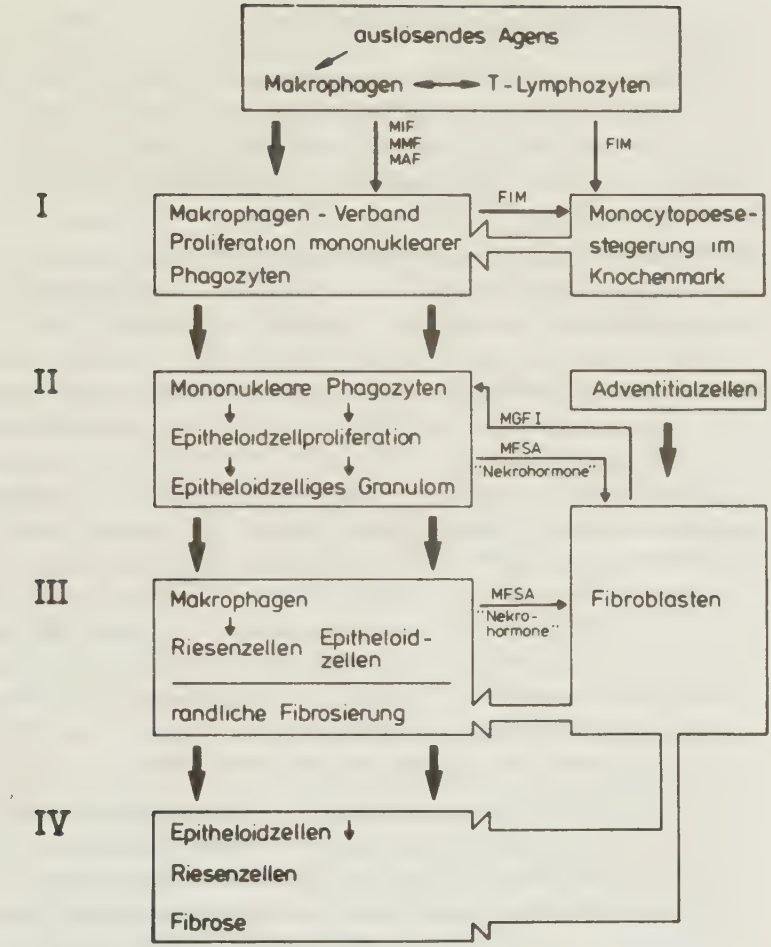
Lymphozyten

Auf die entscheidende Rolle der Lymphozyten im Rahmen der Granulomentwicklung wurde bereits hingewiesen. Den Lymphozyten kommt mit Gewißheit eine überwachende und steuernde Funktion durch den Austausch chemischer Botschaften mit Makrophagen und Epitheloidzellen auf dem Wege über Lymphokine zu. Lymphokine, lokal äußerst reaktive Substanzen, die von sensibilisierten thymusabhängigen Lymphozyten als Resultat einer Antigenstimulation produziert werden, vermögen insbesondere Makrophagen in vielfältiger Weise, wie in Hemmung der Motilität, Steigerung des Adhäsionsvermögens, Steige-

rung der Aktivität und Modulation der Aggregation, zu beeinflussen (DUMONDE et al. 1969). Ob die Lymphozyten ihrerseits wiederum angeregt werden von Lymphokinen oder diesen ähnlichen Substanzen, die von jenen vesikelreichen Epitheloidzellen produziert und abgegeben werden, und so die granulomatöse Reaktion durch einen Prozeß wechselseitiger Stimulation unterhalten wird, ist gegenwärtig zwar noch äußerst spekulativ, stellt aber gerade bei jenen Granulomatosen ohne bisher nachweisbares Agens oder Antigen (wie die Sarkoidose oder der Morbus Crohn) eine verlockende Erklärungsmöglichkeit dar (JONES-WILLIAMS 1977).

Das Krankheitsbild der Sarkoidose geht oft mit einer deutlichen Lymphopenie des Blutes einher. Diese Beobachtung hat zu einer intensiven Beschäftigung mit der Rolle der B- und T-Lymphozyten bei der Sarkoidose geführt. In Störungen der T-Lymphozyten-Funktion, sei es, daß Antikörper gegen diese Zellart gebildet werden (DANIELE u. ROWLANDS 1976) oder daß eine primäre Funktionsstörung der T-Lymphozyten angenommen wurde (LOEHNEN et al. 1976, TOPILSKY et al. 1976), sehen manche Autoren einen Schlüssel zum Verständnis der Phänomene beim Sarkoidosegranulom.

Wie auch andere Untersucher (BÜCHER 1971) sahen wir bei unseren Versuchen in keinem Fall einen markierten Lymphozytenkern. Die Lymphozyten stellen somit unter dem proliferationskinetischen Gesichtspunkt eine stabile Endzell-Population beim Sarkoidosegranulom dar.




FIM Factor increasing monocytopoeisis, MIF Macrophage inhibitory factor, MMF Macrophage mitogenic factor, MAF Macrophage activating factor, MGF I Macrophage growth factor I, MFSA Macrophage dependent fibroblast stimulating activity

Abb. 27 Schematische Darstellung der Entwicklung des Sarkoidosegranuloms von der postulierten auslösenden Reaktion bis zur Fibrose unter Zugrundelegung der zellkinetischen Beobachtungen und unter Beachtung des möglichen Einflusses von Mediatorstoffen.

## 6. Zusammenfassung

Bei der Mediastinoskopie gewonnenes, menschliches Lymphknotengewebe von 11 an Sarkoidose erkrankten, bisher nicht behandelten Patienten wurde in-vitro mit H-3-Thymidin inkubiert und anschließend autoradiographisch untersucht.

Die Gewebeproben, die sich histologisch unterschiedlichen Stadien der Sarkoidose zuordnen ließen, wurden sofort nach der operativen Entnahme in Medium 199 bei 37° C für 15 Minuten unter einem Sauerstoff-Partialdruck von 2,2 Atmosphären mit H-3-Thymidin in einer Aktivitätsdosis von 1o µCi/ml inkubiert. Nach der Einbettung in Epon-Kunstharz wurden von den Präparaten o,5 bis 1,o µm dicke Schnitte (Semidünnschnitte) als Autoradiogramme hergestellt. Nach Exposition, Entwicklung und Färbung wurden die Autoradiogramme lichtmikroskopisch unter der Fragestellung nach dem Proliferationsverhalten der das Granulom bildenden Zellen ausgewertet. Dabei wurden als Zellen des Granuloms und der unmittelbaren Granulomumgebung Lymphozyten, monozytoide(-nukleäre) Zellen, Epitheloidzellen, mehrkernige Riesenzellen, Fibrozyten und Adventitialzellen unterschieden.

Die untersuchten Fälle wurden einer prägranulomatösen Phase, einem Stadium des Granuloms ohne wesentliche Fibrose, einem Stadium der fortschreitenden Fibrosierung und einem Endstadium der fortgeschrittenen Fibrose zugeordnet. Für jedes Stadium ergaben sich in der zellulären Zusammensetzung des untersuchten Lymphknotengewebes sowohl charakteristische Zellprofile als auch kennzeichnende Markierungsprofile.

Aus dem Proliferationsverhalten der unterschiedenen Zelltypen konnte auf die Dynamik der Granulomentwicklung bei der Sarkoidose geschlossen werden:

Am Beginn der granulomatösen Reaktion steht eine erhebliche Akkumulation mononukleärer Zellen, die zu einem Teil frisch aus dem Blutstrom zum Ort der Reaktion auswandern, zum großen Teil aber auch schon im Gewebe vorhanden sind. Die Akkumulation mononukleärer Zellen geht einher mit einer gesteigerten Aktivierung bzw. Teilungsrate dieser Zellen im Gewebe. Im Folgestadium zeigen sich mononukleäre Zellen und Epitheloidzellen als aktivste Zellen des Sarkoidosegranuloms. Mit beginnender lichtoptisch-sichtbarer hyaliner Transformation des Granuloms kommt es zu einem Abfall der proliferativen Aktivität dieser beiden Zellgruppen; gleichzeitig treten in der Granulomperipherie in größerer Anzahl aktivierte und sich teilende Fibroblasten auf. Zwischen faserbildenden Zellen und gefäßwandassoziierten Zellen konnten morphologisch und im Markierungsverhalten Gemeinsamkeiten beobachtet werden, die eine engere zytogenetische Beziehung dieser Zelltypen vermuten lassen. Die in den Spätstadien der Granulomentwicklung häufiger auftretenden mehrkernigen Riesenzellen zeigen keinerlei DNS-Synthese und damit keine Tendenz zur Kernteilung, so daß eine Entstehung dieser Zellen durch endomitotische Teilung nicht wahrscheinlich gemacht werden kann.

Mit Markierungsindices während der Stadien des wachsenden Granuloms von wenig über 9 % bis fast 19 % für die mononukleären Zellen und von 6 % bis 12 % für die Epitheloidzellen bei einer 15-minütigen Inkubationszeit gehört das Sarkoidosegranulom zur Klasse der Hypersensitivitätsgranulome mit hohem Zellumsatz.

## 7. Tabellarischer Anhang

Tabelle Nr. 1: Urliste der insgesamt ausgezählten Zellen und Anzahl der H-3-Thymidin markierten Zellen, geordnet nach den Zelltypen.

Tabelle Nr. 2: Liste der ausgezählten Zellen (alle Fälle); Anzahl der markierten und unmarkierten Zellen; prozentualer Anteil der markierten Zellen an der Gesamtzahl.

Tabelle Nr. 3: Prozentuale zelluläre Zusammensetzung und H-3-Indices unter Zugrundelegung aller ausgezählten Zellen, aufgelistet nach Zelltypen.

Tabelle Nr. 4: Prozentuale Häufigkeit (p%) der einzelnen Zelltypen bei den untersuchten Fällen.

Tabelle Nr. 5: Prozentuale Häufigkeit der einzelnen H-3-Thymidin markierten Zellen (H-3-Index), aufgegliedert nach den Fällen.

Tabelle Nr. 1: Urliste der insgesamt ausgezählten Zellen und Anzahl der H-3-Thymidin markierten Zellen (m), geordnet nach den Zelltypen

| Fall | Nr. 1 | (m) | Nr. 2 | (m) | Nr. 3 | (m) | Nr. 4 | (m) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Ly | 244 | - | 5o8 | - | 374 | - | 1312 | - |
| Mo | 217 | 6 | 6o8 | 86 | 196 | 6 | 942 | 9[illegible] |
| Epi | 593 | 19 | 13o8 | 114 | 4o2 | 14 | 11o8 | 68 |
| E(p) | 383 | 11 | 822 | 76 | 291 | 1o | 76o | 54 |
| E(z) | 21o | 8 | 486 | 38 | 111 | 4 | 348 | 14 |
| Lh | 93 | - | 22 | - | 117 | - | 4 | - |
| Fib | 454 | 13 | 73o | 7o | 489 | 14 | 11o | 1 |
| Adv | 1o8 | 3 | 144 | 16 | 55 | 1 | 55 | - |
| Gesamt | 17o9 | 41 | 332o | 286 | 1633 | 35 | 3531 | 17o |

| Fall | Nr. 5 | (m) | Nr. 6 | (m) | Nr. 7 | (m) | Nr. 8 | (m) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Ly | 712 | - | 1973 | - | 1376 | - | 331 | - |
| Mo | 865 | 81 | 722 | 136 | 1292 | 18o | 1o8 | 2 |
| Epi | 1298 | 74 | 16o | 11 | 1372 | 14o | 248 | - |
| E(p) | 888 | 52 | 16o | - | 996 | 124 | 13o | - |
| E(z) | 41o | 22 | - | - | 376 | 16 | 118 | - |
| Lh | 8 | - | - | - | 32 | - | 2 | - |
| Fib | 115 | 3 | 17 | - | 168 | 8 | 514 | 12 |
| Adv | 129 | 9 | 314 | 13 | 68 | - | 146 | 5 |
| Gesamt | 3127 | 167 | 3197 | 16o | 45o8 | 328 | 1349 | 19 |

Fortsetzung Tabelle 1:

| Fall | Nr. 9 | (m) | Nr. 1o | (m) | Nr. 11 | (m) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Ly | 751 | - | 948 | - | 456 | - |
| Mo | 87o | 114 | 788 | 137 | 562 | 53 |
| Epi | 79o | 96 | 766 | 47 | 9o3 | 1o8 |
| E(p) | 618 | 82 | 469 | 35 | 683 | 9o |
| E(z) | 172 | 14 | 297 | 12 | 22o | 18 |
| Lh | 12 | - | 34 | - | 29 | - |
| Fib | 82 | 2 | 3o2 | 17 | 123 | 12 |
| Adv | 68 | - | 275 | 12 | 62 | 6 |
| Gesamt | 2573 | 212 | 3113 | 213 | 2135 | 179 |

Tabelle Nr. 2: Liste der ausgezählten Zellen (alle Fälle); Anzahl der markierten und unmarkierten Zellen; prozentualer Anteil der markierten Zellen an der Gesamtzellzahl

| | Gesamt | mark. | unmark. | Gesamt-%-mark. |
|---|---|---|---|---|
| Ly | 8985 | - | 8985 | - |
| Mo | 7170 | 899 | 6271 | 3,00 % |
| Epi | 8959 | 691 | 8268 | 2,30 % |
| E(p) | 6211 | 545 | 5666 | 1,82 % |
| E(z) | 2748 | 146 | 2602 | 0,48 % |
| Lh | 353 | - | 353 | - |
| Fib | 3104 | 155 | 2949 | 0,52 % |
| Adv | 1424 | 65 | 1359 | 0,22 % |
| Gesamt | 29995 | 1810 | 28185 | 6,04 % |

Tabelle Nr. 3: Berechnung der prozentualen zellulären Zusammensetzung und der H-3-Thymidin-Indices (%) unter Zugrundelegung aller ausgezählten Zellen, aufgelistet nach Zelltypen

| | Gesamtzahl | Gesamt-p-% | Gesamt-H-3-Index |
|---|---|---|---|
| Ly | 8985 | 29,95 % | - |
| (m) | - | | - |
| Mo | 7170 | 23,90 % | |
| (m) | 899 | | 12,54 % |
| Epi | 8959 | 29,87 % | |
| (m) | 691 | | 7,71 % |
| E(p) | 6211 | 20,71 % | |
| (m) | 545 | | 8,76 % |
| E(z) | 2748 | 9,16 % | |
| (m) | 146 | | 5,31 % |
| Lh | 353 | 1,18 % | |
| (m) | - | | - |
| Fib | 3104 | 10,35 % | |
| (m) | 155 | | 4,99 % |
| Adv | 1424 | 4,75 % | |
| (m) | 65 | | 4,56 % |

Tabelle Nr. 4: Prozentuale Häufigkeit (p%) der einzelnen Zelltypen bei den untersuchten Fällen

| Fall | Nr. 1 | Nr. 2 | Nr. 3 | Nr. 4 |
|---|---|---|---|---|
| Ly | 14,28 % | 15,3o % | 22,9o % | 37,16 % |
| Mo | 12,7o % | 18,31 % | 12,oo % | 26,68 % |
| Epi | 34,7o % | 39,4o % | 24,62 % | 31,38 % |
| E(p) | 22,41 % | 24,76 % | 17,82 % | 21,52 % |
| E(z) | 12,29 % | 14,64 % | 6,8o % | 9,86 % |
| Lh | 5,44 % | o,66 % | 7,17 % | o,11 % |
| Fib | 26,56 % | 21,99 % | 29,94 % | 3,11 % |
| Adv | 6,32 % | 4,34 % | 3,37 % | 1,56 % |
| Gesamt | 17o9 | 332o | 1633 | 3531 |

| Fall | Nr. 5 | Nr. 6 | Nr. 7 | Nr. 8 |
|---|---|---|---|---|
| Ly | 22,77 % | 61,71 % | 31,94 % | 24,54 % |
| Mo | 27,66 % | 22,58 % | 29,99 % | 8,oo % |
| Epi | 41,51 % | 5,35 % | 31,85 % | 18,38 % |
| E(p) | 28,4o % | 5,35 % | 23,12 % | 9,64 % |
| E(z) | 13,11 % | - | 8,73 % | 8,74 % |
| Lh | o,26 % | - | o,74 % | o,15 % |
| Fib | 3,68 % | o,53 % | 3,9o % | 38,1o % |
| Adv | 4,12 % | 9,82 % | 1,58 % | 1o,82 % |
| Gesamt | 3127 | 3197 | 43o8 | 1349 |

Fortsetzung Tabelle Nr. 4:

| Fall | Nr. 9 | Nr. 1o | Nr. 11 |
|---|---|---|---|
| Ly | 29,19 % | 3o.45 % | 21,36 % |
| Mo | 33,81 % | 25,31 % | 26,32 % |
| Epi | 3o,7o % | 24,61 % | 42,29 % |
| E(p) | 24,o2 % | 15,o7 % | 31,99 % |
| E(z) | 6,68 % | 9,54 % | 1o,3o % |
| Lh | o,47 % | 1,o9 % | 1,36 % |
| Fib | 3,19 % | 9,7o % | 5,76 % |
| Adv | 2,64 % | 8,83 % | 2,9o % |
| Gesamt | 2573 | 3113 | 2135 |

Tabelle Nr. 5: Prozentuale Häufigkeit der einzelnen H-3-Thymidin markierten Zellen (H-3-Index), aufgegliedert nach den Fällen
a) Monocytoide, Fibrocytäre und Adventitialzellen

| | Mo | Fib | Adv |
|---|---|---|---|
| Nr. 1 | 2,77 | 2,86 | 2,77 |
| Nr. 2 | 14,15 | 9,59 | 11,11 |
| Nr. 3 | 3,o6 | 2,86 | 1,82 |
| Nr. 4 | 1o,4o | 3,64 | - |
| Nr. 5 | 9,36 | 2,61 | 6,98 |
| Nr. 6 | 18,84 | - | 4,14 |
| Nr. 7 | 13,93 | 4,76 | - |
| Nr. 8 | 1,85 | 2,34 | 3,43 |
| Nr. 9 | 13,1o | 2,44 | - |
| Nr. 1o | 17,39 | 5,63 | 4,36 |
| Nr. 11 | 9,43 | 9,76 | 9,68 |

Fortsetzung Tabelle Nr. 5:

b) Epitheloidzellen, untergliedert in periphere und Zentrale

| | Epi-gesamt | E.-peripher | E.-zentral |
|---|---|---|---|
| Nr. 1 | 3,2o | 2,87 | 3,81 |
| Nr. 2 | 8,72 | 9,25 | 7,82 |
| Nr. 3 | 3,48 | 3,44 | 3,6o |
| Nr. 4 | 6,14 | 7,11 | 4,o2 |
| Nr. 5 | 5,7o | 5,86 | 5,37 |
| Nr. 6 | 6,43 | 6,43 | - |
| Nr. 7 | 1o,2o | 12,45 | 4,25 |
| Nr. 8 | - | - | - |
| Nr. 9 | 12,16 | 13,27 | 8,14 |
| Nr. 1o | 6,14 | 7,46 | 4,o4 |
| Nr. 11 | 11,91 | 13,18 | 8,18 |

## 8. Literaturverzeichnis

ABRAHAM, J.L.
Microanalysis of human granulomatous lesions. In: JONES WILLIAMS, R., B.H. DAVIES (eds.): 8th Int. Conf. on Sarcoidosis and other granulomatous diseases, Cardiff, Alpha Omega Publ. Limit., 1980, pp. 38 - 47

ADAMS, D.O.
The granulomatous inflammatory response. A review. Am. J. Pathol. 84, 164 - 192 (1976)

AMLACHER, E.
Autoradiographie in Histologie und Cytologie. Stuttgart, G. Fischer Verlag, 1974

ASCHOFF, L.
Ein Beitrag zur Lehre von den Makrophagen - aufgrund von Untersuchungen des Herrn Dr. Kiyono. Verh. Dtsch. Ges. Path., 16, 107 (1913)

ASCHOFF, L.
Das Reticuloendotheliale System. Ergebn. Inn. Med. Kinderheilk. 26, 1 (1924)

AZAR, H.A., LUNARDELLI, C.
Collagen nature of asteroid bodies of giant cells in sarcoidosis. Am. J. Pathol., 57, 81 - 92 (1969)

AZAR, H.A., MOSCOVIC, E.A., ABU NASSAR, S.G., MCDOUGAL, J.S.
Some aspects of sarcoidosis. Current Topics in Pathology 57, 49 - 79 (1973)

BARBOLINI, G., BISETTI, A., VELLUTI, G., FANO, A.R.
The significance of fungi in pulmonary sarcoidosis. In: JONES WILLIAMS, W., B.H. DAVIES 8th Int. Conf. on Sarcoidosis and other granulomatous diseases, Cardiff, Alpha Omega Publ. Limit. 1980, pp. 54 - 58

BARTH, C.L. et al.
Isolation of an acid-fast organism from the aqueous humor in a case of sarcoidosis. Henry Ford Hosp. med. J. 27, 127 (1979), zit. nach Dtsch. med. Wschr. 105, 1066 (1980)

BAUM, G.L., SCHWARG, J., BARLOW? P.B.
Sarcoidosis and specific agents. Chest 63, 488 (1973)

BAUER, H.J., LOFGREN, S.
International study of pulmonary sarcoidosis in mass chest radiography. Acta Med. Scand. 176 (Suppl. 425), 103 (1964)

BEHREND, H.
Die Klinik und Diagnostik der Sarkoidose. Internist 10, 293 (1969)

BESNIER, E.
Lupus pernio de la face. Ann. Dermatol. Syphiligr. 10, 333 (1889)

BLACK, M.M., EPSTEIN, W.L.
Formation of multinucleate giant cells in organized epitheloid cell granulomas. Am. J. Pathol. 74, 263 - 271 (1974)

BITTER-SUERMANN, D.
Die Funktionseinheit Makrophage-Komplement. Verh. Dtsch. Ges. Pathol. 64, 63 - 76 (1980)

BLAESER, B.
Proliferationskinetik im peritumoralen Entzündungsfeld menschlicher Kehlkopf-Carcinome. Med. Diss., Münster, 1975

BOECK, C.
Weitere Beobachtungen über das "multiple benigne Sarkoid der Haut". Festschrift F. Karposi, Arch. Derm. Syph., Wien, Leipzig, Ergänzungsbd., 153 - 168 (1900)

BLÜMCKE, S., BACKMANN, R.
Epon 812 als Einbettungsmittel für die lichtmikroskopische Autoradiographie.
Naturwissenschaften 53, 362 (1966)

BRACKERTZ, D.
Histocombatibility (HL-A)-antigens in sarcoidosis. In: IWAI, K., HOSODA, Y., (eds.): Proceedings of the 6th Int. Conf. on Sarcoidosis, Tokyo, 1974, p. 236

BRITISH THORACIC AND TUBERCULOSIS ASSOCIATION
Familial associations in sarcoidosis.
Tubercle 54, 87 (1973)

BYRNE, B.B., EVANS, A.S., ISRAEL, H.L.
A seroepidemiological study of the Epstein-Barr virus and other viral antigens in sarcoidosis.
Amer. J. Epidemiol. 97, 355 (1973)

BÜCHER, TH.
Entzündungszellen im Blut und im Gewebe.
Veröff. a. d. morphol. Path. 86, Fischer Verlag, Stuttgart, 1971

BUCHER, O.
Cytologie, Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen.
Bern-Stuttgart-Wien, Huber Verlag, 8. Aufl., 1973

CAIN, H., KRAUS, B.
The ultrast ructure and morphogenesis of asteroid bodies in sarcoidosis and other granulomatous disorders. In: JONES WILLIAMS, W., DAVIES, G.H. (eds.) 8th Int. Conf. on sarcoidosis and other granulomatous diseases. Cardiff, Alpha Omega Publ. Limit. 1970, pp. 30 - 37

CAIN, H., KRAUS, B.
Mehrkernige Riesenzellen in Granulomen. Neuordnung der Binnenstruktur nach Konfluenz von Zellen des Makrophagensystems.
Virchows Arch. Pathol. Anat. 385, 309 - 333 (1980)

CAIN, H.
Granulome und Granulomatosen.
Der Pathologe 2, 65 - 71 (1981)

CHAPMAN, J.S., SPEIGHT, M.
Further studies of mycobacterial antibodies in the sera of sarcoidosis patients.
Acta med. Scand., Suppl. 425, 61 - 66 (1964)

COTTIER, H., HESS, M.W., KELLER, H.U., SCHAFFNER, Th.
Chemokinese, Chemotaxis und Funktion von Phagozyten, mit besonderer Berücksichtigung der Makrophagen.
Verh. Dtsch. Ges. Pathol. 64, 24 - 45 (1980)

CUMMINGS, M.M., DUNNER, E., WILLIAMS, J.H.
Epidemiological and clinical observations in sarcoidosis.
Ann. intern. Med. 50, 879 - 890 (1959)

DANIELE, R.P., ROWLANDS, D.T.
Antibodies to T-cells in sarcoidosis.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 278, 89 - 100 (1976)

DANNENBERG, A.M., ANDO, M., SHIMA, K., TSUDA, T.
Macrophage turnover and activation in tuberculous granulomata. In: Mononuclear Phagocytes in immunity, infection and pathology. v. FURTH, R. (ed.), Oxford, Blackwell Scientific Publ. 1975, p. 959

DUMONDE, D.C., WOLSTENCROFT, R.A., PANAY, G.S., MATHEW, M., MORLEY, J., HOWSON, R.T.
Lymphokines. Nature 224, 338 (1967)

EPSTEIN, W.
Granuloma formation in man.
Pathobiol. Ann. 7, 1 - 3o (1977)

FERLITSCH, A., KOHOUT, J., KUMMER, F., LEGENSTEIN, E., MÜLLER, M.M.
Angiotensin converting enzyme in the diagnosis of sarcoidosis. In: JONES WILLIAMS, W., DAVIES, B.M., (eds.) 8th Int. Conf. on sarcoidosis and other granulomatous diseases, Cardiff. Alpha Omega Publ. Limit., 198o, pp. 283 - 286

FRANK, H.
Proliferationskinetik menschlicher Plattenepithel-Carcinome des Kehlkopfes. Eine autoradiographische Untersuchung.
Med. Diss. Münster 1975

FURTH van, R.
The origin and turnover of promonocytes, monocytes and macrophages in normal mice.
In: van FURTH, R., (ed.) Mononuclear phagocytes, Oxford-Edinburgh, Blackwell Scientific Publ., 197o, p. 151

FURTH van, R., (ed.)
Mononuclear phagocytes in immunity, infection and pathology. Oxford-Edinburgh-London, Blackwell Scientific Publ., 1975

FURTH van, R.
Mononuclear phagocytes in inflammation.
In: VANE, J.R., FERREIRA, S.H., (eds.) Handbook of experimental pharmakology, Vol. 5o/I, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 1978, p. 68

FURTH van, R., WILLEMZE, R.
Phagocytic cells during an acute inflammatory reaktion.
Current Topics in Pathology 68, pp. 179 - 2o2 (1979)

FURTH van, R.
The mononuclear phagocyte system.
Verh. Dtsch. Ges. Pathol. 64, pp. 1 - 11 (1980)

FURTH van, R., (ed.)
Mononuclear phagocytes. Functional aspects.
Part I
Den Haag-Boston-London, Martinus Nijhoff
Publ. 1980, pp. 1 - 31

FURTH van, R., DIESSELHOFF-DEN DULK, M.M.C., RAEBURN, J.A., VAN ZWET, R.L., CROFTON, R., VAN OUD ALBAS, A.B.
Characteristics, origin and kinetics of human and murine mononuclear phagoctes.
In: van FURTH, R., (ed.) Mononuclear phagocytes. Functional aspects. Part I. Den Haag-Boston-London, Martinus Nijhoff Publ. 1980, pp. 279 - 296

FUSE, Y., IMAZEKI, N., ASAKAWA, M., HIRAGA, Y., SHIMADA, Y., MIKAMI, R., OSADA, H., HAYAKAWA, K.
Ultrastructural study of sarcoid granulomas-lymphocyte alterations within sarcoid granulomas.
In: JONES WILLIAMS, W., DAVIES, B.H., (eds.) 8th. Int. Conf. on Sarcoidosis and other granulomatous diseases. Cardiff, Alpha Omega Publ. Limit., 1980, pp. 19 - 22

GLAUS, K.R., PERLMANN, P.S., KATARIA, Y.P.
Reverse transcriptase and sarcoidosis.
In: JONES WILLIAMS, W., DAVIES, B.H., (eds.) 8th Int. Conf. on sarcoidosis and other granulomatous diseases, Cardiff, Alpha Omega Publ. Limit., 1980, pp. 179 - 185

GUSEK, W.
Submikroskopische Untersuchungen zur Feinstruktur aktiver Bindegewebszellen.
Veröff. a. d. morphol. Path. 64, Fischer Verlag, Stuttgart, 1962

GUSEK, W.
Histologische und vergleichende elektronenmikroskopische Untersuchungsergebnisse zur Zytologie, Histogenese und Struktur des tuberkulösen und tuberkuloiden Granuloms.
Med. Welt 15, 85o (1964)

GUSEK, W.
Formale Pathogenese der hyalinen Transformation des Sarkoidosegranuloms.
Virchows Arch., Abt. A, 345, 264 - 275 (1968)

HEDFORS, E., HOLM, G., PETTERSEN, D.
Lymphocyte sub-populations in sarcoidosis.
Clin. Exp. Immunol. 17, 115 (1974)

HELPAP, B., MAURER, W.
Bemerkungen zu autoradiographischen Untersuchungsmethoden von Excisionsgeweben in vitro mit H-3-Thymidin.
Verh. Dtsch. Ges. Path. 51, 262 - 267 (1967)

HELPAP, B., MAURER, W.
Autoradiographische Untersuchungen zur Frage der Vergleichbarkeit des Einbaus von markiertem Thymidin unter in vivo-Bedingungen und bei Inkubation von Gewebeproben.
Virchows Arch. Abt. B Zellpath. 4, 1o2 - 11o (1969)

HEINE, W.-D.
Ursprung und Zellkinetik sessiler Makrophagen am Beispiel der von Kupffer'schen Sternzellen der Leber.
Verh. Dtsch. Ges. Pathol. 64, 12 - 2o (198o)

HEYMER, B., HAFERKAMP, O.
Struktur und Biochemie mikrobieller Komponenten bei der Granulombildung.
Verh. Dtsch. Ges. Pathol. 64, 48 - 62 (198o)

HIRAGA, Y., HOSODA, Y., ZENDA, I.
A local outbreak of sarcoidosis in Northern Japan.
Z. Erkr. Atm.-Org. 149, 38 - 43 (1977)

HIRSHAUT, Y., GLADE, P., OCTAVIO, L., VIEIRA, E., AINBENDER, E
DVORAK, B., SILTZBACH, L.E.
Sarcoidosis, another disease associated with serologic evidence for herpes-like virus infection.
N. Engl. J. Med. 283, 502 (1970)

HOELZER, D.
Zellkinetische Techniken-Autoradiographie.
In: Das Knochenmark, Morphologie, Funktion, Diagnostik, hrsg. v. QUEISSER, W., Stuttgart, Thieme Verlag, 1978, S. 47 - 53

HUTCHINSON, J.
Illustration of clinical surgery.
London, Churchill, 1877

ISRAEL, H.L., WASHBURNE, J.D.
Charakterics of sarcoidosis in black and white patients. Analysis of 162 recent cases.
In: JONES WILLIAMS, W., DAVIES, B.H., (eds.) 8th Int. Conf. on sarcoidosis and other granulomatous diseasis, Cardiff, Alpha Omega Publ. Limit., 1980, pp. 497 - 507

ITO, Y., TOYOMA, J., MORIKOWA, S., HIRANO, T., HIRASAWA, K., UNOSHITA, Y., KANAZAWA, Y.
The production of granulomas in animals and men by proprionibacterium suspension and yersinia.
In: JONES WILLIAMS, W., DAVIES, B.H., (eds.) 8th Int. Conf. on sarcoidosis and other granulomatous diseasis, Cardiff, Alpha Omega Publ. Limit., 1980, pp. 142 - 149

JAMES, D.G., PIYASENA, K.W.G., NEVILLE, E., WALKER, N.P., WAMLYN, A.N.
Possible genetic influences in familial sarcoidosis.
Postgrad. Med. J. 50, 664 (1974)

JAMES, D.G., NEVILLE, E., SILTZBACH, L.E., TURIAF, J., BATTESI, J.P., SHARMA, O.P., HOSODA, Y., VILLAR, T.G., DJURIC, B., DOUGLAS, A.C., KARLISH, A., BLASI, A., PRESS, P.
A worldwide review of sarcoidosis.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 278, 378 - 535 (1976)

JÖRGENSEN, G.
Untersuchungen zur Genetik der Sarkoidose.
Habil. Schrift, Göttingen 1965

JONES WILLIAMS, W., ERASMUS, D.A., JENKINS, D., JAMES, E.M., DAVIES, T.
A comparative study of the ultrastructure and histochemistry of sarcoid and tuberculous granulomas. In: LEVINSKY, F., MACHOLDA, M., (eds.) 5th Int. Conf. on sarcoidosis, Prag, 1971, pp. 115 - 120

JONES WILLIAMS, W., FRY, E., JAMES, E.M.
The fine structure of beryllium granulomas.
Acta Pathol. Microbiol., Suppl. 233, 195 - 202 (1972)

JONES WILLIAMS, W.
Sarcoidosis - 1977.
Beitr. Path. 160, 325 - 336 (1977)

JONES WILLIAMS, W.
Form and function of sarcoid granulomas.
Z. Erkrank. Atm.-Org. 149, 75 - 79 (1977)

JONES WILLIAMS, W., DAVIES, B.M., (eds.)
8th Int. Conference on Sarcoidosis and other granulomatous diseases. Cardiff, Alpha Omega Publ. Limit., 19?o

KALIFAT, S.R., BOUTEILLE, M., DELARUE, J.
Changes in connective tissue in sarcoid granuloma: hyalin, paraamyloid and fibrinoid.
Virchow Arch. Abt. B 3, 348 - 358 (1969)

KLEIN, H.O., LENNARTZ, K.J., EDER, M., GROSS, R.
In-vitro-Verfahren zur autoradiographischen Bestimmung der Zellkinetik der Erythroblasten bei Tier und Mensch.
Histochemie 21, 369 - 382 (197o)

KLEIN, H.J., LENNARTZ, K.J.
Neue Aspekte bei der morphologischen Magendiagnostik. Methodik und Ergebnisse autoradiographischer in-vitro-Untersuchungen am Biopsiematerial der Magenschleimhaut des Menschen.
Z. Gastroenterologie 1o, 455 - 46o (1972)

KOPRIWA, B.M., LEBLOND, C.P.
Improvements in the coating technique of radioautography.
J. Histochem. Cytochem. 15, 5o1 (1967)

KRAUS, B.
Mehrkernige Riesenzellen in Granulomen.
Verh. Dtsch. Ges. Pathol. 64, 1o3, 125 (198o)

LEDER, L.D.
Der Blutmonozyt.
Experimentelle Medizin, Pathologie u. Klinik 23, Springer, Berlin-Heidelberg-New York, 1967

LEIBOVICH, S.J., ROSS, R.
A macrophage-dependent factor that stimulates the proliferation of fibroblasts in vitro.
Amer. J. Path. 84, 5o1 - 514 (1976)

LIEBERMANN, J.
Elevation of serum angiotensin converting enzyme (ACE) level in sarcoidosis.
Am. J. Med. 59, 365 (1975)

LOEHNEN, C.P., DEREMEE, R.A., TOMASI, T.B., STOBO, J.D.
Regulation of immunologic reactivity in sarcoidosis.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 278, 117 - 124 (1976)

MANKIEWICZ, E.
On the etiology of sarcoidosis.
Canad. med. Ass. J. 88, 593 - 595 (1963)

MARCHAND, F.
Über die bei Entzündungen in der Peritonealhöhle auftretenden Zellformen.
Verh. Dtsch. Ges. Pathol. 1, 63 - 81 (1898)

MARIANO, M.
Functional characterization and possible role played by E-macrophages (epitheloid cells) in experimental granulomas. In: JONES WILLIAMS, W., DAVIES, B.H., (eds.) 8th. Int. Conf. on sarcoidosis and other granulomatous diseases, Cardiff, Alpha Omega Publ. Limit., 1980, pp. 68 - 75

MATSUI, Y., IWAI, K., TACHIBANA, R., FRUIE, T., SHIGEMATSU, N., IZUMI, T., HOMMA, A.H., MIKAMI, R., HONGO, O., HIRAGA, Y., YAMAMOTO, M.
Clinicopathological study on fatal myocardial sarcoidosis.
Ann. N.Y. Acad. Sci, 278, 455 - 469 (1976)

MESSIER, B., LEBLOND, C.P.
Preparation of coated radiographs by dipping section in fluid emulsion.
Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) 96, 7 (1957)

MITCHELL, D.N., REES, R.J.W.
A transmissible agent from sarcoid tissue.
Lancet 2, 81 - 84 (1969)

MITCHELL, D.N., REES, R.J.W.
Further ovservations on the nature and physical characteristics of transmissible agents from human sarcoid and Crohn's disease tissues. In: JONES WILLIAMS, W., DAVIES, B.H. (eds.) 3th Int. Conf. on sarcoidosis and other granulomatous diseases, Cardiff, Alpha Omega Publ. Limit., 19?o, pp. 121 - 132

MORGENROTH, K., SCHRÖDER, C., THEMANN, H.
Doppelfärbung von Semidünnschnitten mit basischen Farbstoffen.
Mikroskopie, 26, 26o - 263 (197o

MORGENROTH, K., FASSKE, E.
Elektronenmikroskopische Untersuchungen der mediastinalen Lymphknotensarkoidose.
Beitr. Path. 153, 51 - 64 (1974)

MOSCOVIC, E.A., NEPTUNE C.J.B.
Possible protozoel nature of pigment granules in RES cells of sarcoid lymphnodes.
Fed. Proc. 28, 549 (1969)

MÜLLER-HERMELINK, H.K., KAMIYAMA, R., KAISERLING, E., LENNERT, K.
Lymph node findings in sarcoidosis. Light microskopical, ultrastructural and enzyme histochemical results. In: JONES WILLIAMS, W., DAVIES, B.H., (eds.) 3th Int. Conf. on sarcoidosis and other granulomatous diseases, Cardiff, Alpha Omega Publ. Limit., 19?o, pp. 23 - 29

MÜLLER-HERMELINK, H.K., KAISERLING, E.
Epitheloidzellreaktionen im lymphatischen Gewebe.
Verh. Dtsch. Ges. Pathol. 64, 77 - 1o2 (19?o)

PAPADIMITRIOU, J.M., SPECTOR, W.G.
The origin, properties and fate of epitheloid cells.
J. Path. 1o5, 187 - 2o3 (1971)

PELC, S.R., APPELTON, T.C.
Distribution of triated Thymidin in various tissues.
Nature 27, 1287 - 1289 (1965)

PICKARTZ, H., JAUTZKE, G.
Ultrastrukturelle und immunhistochemische Charakterisierung von Epitheloidzellen bei entzündlichen und neoplastischen Lymphknotenprozessen.
Verh. Dtsch. Ges. Pathol. 64, 219 - 223 (198o)

QUEISSER, W., NOESKE, K., SANDRITTER, W., LENNERT, K.
Cytophotometrische Untersuchungen des DNS-, Histon- und Gesamtproteingehaltes von Epitheloidzellen, Gewebsmastzellen und von Zellen der Plasmacytopoiese bei käsiger Lymphknotentuberkulose.
Klin. Wochenschrift 45, 1135 - 1142 (1967)

QUEISSER, W., SANDRITTER, E., LENNERT, K.
Cytophotometrische Untersuchungen an Histiocyten, Epitheloidzellen und Langhans'schen Riesenzellen bei Sarkoidose des Lymphknotens.
Virchows Arch. Abt. B Zellpath. 1, 49 - 61 (1968)

RAJEWSKY, M.F.
Zellproliferation in normalen und malignen Geweben: H-3-Thymidin-Einbau in vitro unter Standardbedingungen.
Biophysik 3, 65 - 93 (1966)

RØNER, F.K.
On the "true" incidence of sarcoidosis in Denmark. zit. nach LEVINSKY, L., et al.: Sarcoidosis in Europe; a cooperative study. Ann. N. Y. Acad. Sci. 278, 335 - 345 (1976)

ROULET, F.C.
Die infektiösen, spezifischen Granulome. In: Handbuch der allg. Pathologie VII/1, 525 - 496 (1956)

SARTWELL, P.E.
Racial differences in sarcoidosis. Ann. N. Y. Acad. Sci, 278, 368 - 37o (1976)

SCADDING, J.G.
Sarcoidosis. London, Eyre & Spottiswoode, 1967

SCHAUMANN, J.
Etudes sur le lupus pernio et ses reports avec le sarcoides et la tuberculose. Ann. Dermatol. Syphiligr. 5, 357 (1916-17)

SCHULTZE, B., OEHLERT, W.
Autoradiographic investigation of incorporation of H-3-Thymidine into cells of rat and mouse. Science 131, 737 - 738 (196o)

SCHULTZE, B.
Die Orthologie und Pathologie des Nucleinsäure- und Eiweißstoffwechsels der Zelle im Autoradiogramm. In: Handbuch der allg. Pathologie II/5, 446 - 67o (1968)

SILTZBACH, L.E. (ed.)
7th International Conference on Sarcoidosis and other Granulomatous Disorders. Ann. N. Y. Acad. Sci. 278 (1976)

SILTZBACH, L.E., TAUB, R.N.
Sarcoidosis. In: Immunological diseases. ed. by SAMTER, M., Little Brown u. Co., 1978, pp.55o - 569.

SILTZBACH, L.E.
Current world supply of Kveim test suspensions. In: JONES WILLIAMS, W., DAVIES, B.H., (eds.) 8th Int. Conf. on sarcoidosis and other granulomatous diseases, Cardiff, Alpha Omega Publ. Limit., 19?o, pp. 679 - 681

SLUITER, W., VAN WAARDE, D., HULSING-HESSELINK, E., ELZENGA-CLAASEN, I.L., VAN FURTH, R.
Humoral control of monocyte production during inflammation. In: Mononuclear Phagocytes, Part I, hrsg. v. VAN FURTH, R., Den Haag-Boston-London, Martinus Nijhoff Publ., 198o, pp. 325 - 34o

SOLER, P., BASSET, F., BERNAUDIN, J.F., CHRETIEN, J.
Morphology and distribution of the cells of a sarcoid granuloma: ultrastructural study of serial sections.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 278, 147 - 159 (1976)

SPECTOR, W.G., LYKKE, A.W.J.
The cellular evulation of inflammatory granulomata.
J. Path. Bact. 92, 163 - 177 (1966)

SPECTOR, W.G.
The makrophage-its origin and role in pathology.
Pathobiol. Annual 4, 33 - 64 (1974)

SPECTOR, W.G.
Epitheloid cells, giant cells, and sarcoidosis.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 278, 3 - 6 (1976)

SPECTOR, W.G.
Die Morphologie, Kinetik und Schicksal der Granulome.
Verh. Dtsch. Ges. Pathol. 64, 21 - 24 (198o)

SPENCER, H.
Pathology of the lung. Volume II.
Oxford-New York, Pergamon Press, 1977,
pp. 761 - 768

STEPLINSKI, Z., ISRAEL, H.L.
The search for viruses in sarcoidosis.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 278, 26o - 262 (1976)

STUDDY, P., JAMES, D.G. and co-authers
Serum angiotensin-converting enzyme (SACE)-
experience in ten centres. In: JONES WILLIAMS,
W., DAVIES, B.H. (eds.) 8th Int. Conf. on
sarcoidosis and other granulomatous diseases,
Cardiff, Alpha Omega Publ. Limit., 198o,
pp. 241 - 245

TANAKA, A., EMORI, K., NAGAO, S.
Macrophage activation and epitheloid granuloma
formation by a synthetic bacterial cell wall
constituent. In: JONES WILLIAMS, W., DAVIES,
B.H. (eds.) 8th Int. Conf. on sarcoidosis and
other granulomatous diseases, Cardiff, Alpha
Omega Publ. Limit., 198o, pp. 153 - 164

TOPILSKY, M., SHOHAT, B., SPITZER, S., JOSHUA, H.
Relationship between T-rosette-Forming cells
and cellular immunity in sarcoidosis.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 278, 1o8 - 116 (1976)

TURTON, C.W.G., TURNER-WARWICK, M., MORRIS, L.,
LAWLER, S.D.
HLA in familial sarcoidosis. In: JONES WILLIAMS,
W., DAVIES, B.H. (eds.) 8th Int. Conf. on
sarcoidosis and other granulomatous diseases,
Cardiff, Alpha Omega Publ. Limit., 198o,
pp. 195 - 2oo

UNANUE, E.R.
Secretory function of mononuclear phagocytes.
Am. J. Pathol. 84, 164 (1976)

UNANUE, E.R.
The immune granulomas. In: Immunological diseases, ed. by SAMTER, M., Little Brown u. Co., 1978, pp. 297 - 3o6

VANEK, J., SCHWARZ, J.
Demonstration of acid-fast rods in sarcoidosis.
Amer. Rev. resp. Dis. 1o1, 395 - 4oo (197o)

WAARDE van, D., HULSING-HESSELINK, E., VAN FURTH, R.
Properties of a factor increasing monocytopoiesis (FIM) occuring in serum during the early phase of an inflammotory reaction.
Blood 5o, 272 - 279 (1977

WANSTRUP, J., ELLING, P.
Immunhistrochemistry of sarcoidosis.
Acta path. microbiol. scand. 73, 37- 48 (1968)

WARREN, K.S.
A functional classification of granulomatous inflammation.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 278, 7 - 18 (1976)

WINTERBAUER, R.H., KRAEMER, K.G.
The infections complications of sarcoidosis.
Arch. Intern. Med. 136, 1356 (1976)

WOLFART, W.
Histoautoradiographische Untersuchungen zum Stoffwechsel und zur Genese des tuberkulösen Granulationsgewebes.
Beitr. path. Anat. 129, 436 - 483 (1964)

WURM, K.

Diagnostik der Sarkoidose. In: Die Sarkoidose-Bericht über die Sarkoidose-Tagung in Höchenschwand 1968, hrsg. v. WURM, K., Höchenschwand, 1969, S. 86 - 106

YAMAMOTO, Y., NAGAO, S., TANAKA, A., KOGA, T., ONOUE, K.
Inhibition of macrophage migration by synthetic muramyl dipeptide.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 80, 923 -928 (1978).

## 9. Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. K. Morgenroth danke ich herzlich für die Anregung des Themas, für die Ratschläge bei der Planung und Durchführung der Experimente sowie für die Möglichkeit, diese im Institut für Pathologie durchführen zu können.

Herrn Prof. Dr. med. Maaßen und seinen Mitarbeitern von der Ruhrlandklinik Essen-Heidhausen gilt mein besonderer Dank für die Überlassung der Gewebeproben. In gleicher Weise sei auch Herrn Prof. Dr. med. Hupe, Paracelsus-Klinik, Marl, gedankt, dem ich ebenfalls Lymphknotengewebe in einem Fall verdanke.

Für die Hilfe bei der Erstellung der graphischen Darstellungen und deren photographischer Reproduktion danke ich auch Fräulein H. Stark und Fräulein U. Strobusch recht herzlich.

## 1o. L e b e n s l a u f

Am 5. 9. 1951 wurde ich als erstes Kind der Eheleute Andreas Barth und Hilde Barth, geb. Knoche, in 654o Simmern, Rhein-Hunsrück-Kreis, geboren.

Nach dem vierjährigen Besuch der Grundschule in 5448 Kastellaun wechselte ich zur Realschule am selben Ort und zwei Jahre später zum Staatlichen Herzog-Johann-Gymnasium Simmern. Dort erlangte ich am 3. 6. 197o das Abitur.

Anschließend nahm ich das Studium der Geschichte und Germanistik an der Universität Mainz auf. Dieses Studium mußte ich wegen der Einberufung zum zivilen Ersatzdienst, den ich in einem Krankenhaus ableitete, unterbrechen. Nach Beendigung des zivilen Ersatzdienstes bewarb ich mich um die Zulassung zum Studium der Medizin, und zum WS 1974/75 konnte ich mich an der Ruhr-Universität Bochum im Fach Humanmedizin immatrikulieren; am 27. 8. 1976 bestand ich die Ärztliche Vorprüfung und führte dann mein Studium für zwei Semester formal am Klinikum der Gesamthochschule Essen fort, belegte jedoch weiterhin alle Kurse an der Ruhr-Universität. Zum WS 1977/78 wurde ich dann wieder ordentlicher Studierender in Bochum. Dort legte ich im August den zweiten Teil der Ärztlichen Prüfung ab und setzte die Ausbildung im Praktischen Jahr im Evangel. Krankenhaus Herne 1 (Innere Medizin und Chirurgie) und im Marien-Hospital Herne 1 (Gynäkologie) fort.

Den dritten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung bestand ich im Oktober 198o in Herne. Die Approbation als Arzt wurde mir am 11. Dezember 198o erteilt.

Vom 3. 11. 198o bis zum 3o. 4. 1982 war ich als Assistenzarzt/wiss. Angestellter am Institut für Pathologie der Ruhr-Universität Bochum beschäftigt.

DER DRUCKER - Buscheystraße 138 - 4630 Bochum - Tel. (02 34) 70 41 16